

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA
UNIVERSITÉ DE NANTES
ÉCOLE DOCTORALE BIOLOGIE-SANTE UBL
U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES
INSTITUT DE RECHERCHE EN SANTE 2**

TESE DE DOUTORADO

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E ATIVIDADE TRIPANOCIDA E LEISHMANICIDA DE
NOVOS DERIVADOS HÍBRIDOS DOS HETEROBICICLOS 2-ISOXAZOLINA AZA-
BICÍCLICA E 5,6,7,8-TETRAHIDROIMIDAZO[1,2-a]PIRAZINA**

MARLENE SARAIVA DE ARAÚJO NETA

RECIFE – 2019

MARLENE SARAIVA DE ARAÚJO NETA

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E ATIVIDADE TRIPANOCIDA E LEISHMANICIDA DE
NOVOS DERIVADOS HÍBRIDOS DOS HETEROBICICLOS 2-ISOXAZOLINA AZA-
BICÍCLICA E 5,6,7,8-TETRAHIDROIMIDAZO[1,2-a]PIRAZINA**

Tese em Cotutela entre a Universidade Federal de Pernambuco e a Université de Nantes apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco e a L'École Biologie-Santé na Université de Nantes, como requisito para a obtenção do título de Doutora em Inovação Terapêutica e Doutora em Chimie Thérapeutique.

ORIENTADOR(s): Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria
Prof. Dr. Pascal Marchand

RECIFE – 2019

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Araújo Neta, Marlene Saraiva de

Planejamento, síntese e atividade tripanocida e leishmanicida de novos derivados híbridos de heterobícclos 2-isoxazolina aza-bicíclica e 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a] pirazina / Marlene Saraiva de Araújo Neta. - 2019.

74 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria

Coorientador: Prof. Dr. Pascal Marchand.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica, Recife, 2019.

Inclui referências.

1. Doenças negligenciadas. 2. Leishmaniose. 3. Doença de chagas. I. Faria, Antônio Rodolfo de (orientador). II. Marchand, Pascal (coorientador). III. Título.

616.936

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2021-312

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA
UNIVERSITÉ DE NANTES
ÉCOLE DOCTORALE BIOLOGIE-SANTE UBL
U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES
INSTITUT DE RECHERCHE EN SANTE 2

Recife, 26 de setembro de 2019

Tese de Doutorado intitulada “PLANEJAMENTO, SÍNTESE E ATIVIDADE TRIPANOCIDA E LEISHMANICIDA DE NOVOS DERIVADOS HÍBRIDOS DOS HETEROBICICLOS 2-ISOXAZOLINA AZA-BICÍCLICA E 5,6,7,8-TETRAHIDROIMIDAZO[1,2-a]PIRAZINA”, defendida por Marlene Saraiva de Araújo Neta, e Aprovada em 17 de setembro de 2019, cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E EXAMINADORA INTERNA: Profa. Dra. Maira Galdino da Rocha Pitta

(Universidade Federal de Pernambuco)

Assinatura: _____

SEGUNDO EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria

(Universidade Federal de Pernambuco)

Assinatura: _____

TERCEIRO EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior

(Universidade Estadual da Paraíba)

Assinatura: _____

QUARTO EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra. Valéria Pereira Hernandez

(Centro de pesquisas Aggeu Magalhães)

Assinatura: _____

PRIMEIRO EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Pascal Marchand

(Université de Nantes)

Assinatura: _____

SEGUNDO EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Patrice Le Pape

(Université de Nantes)

Assinatura: _____

TERCEIRO EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Ronaldo Nascimento de Oliveira

(Universidade Federal Rural de Pernambuco)

Assinatura: _____

Ao meu avô Fernando Araújo (*in memoriam*),
à minha família e
ao meu esposo Victor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela vida e pelas bênçãos que Ele me proporcionou durante todos estes anos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Antônio Rodolfo, pelos conhecimentos transmitidos ao longo desses 11 anos, da graduação ao doutorado, por ser uma inspiração e pela confiança em mim depositada.

Ao meu orientador, Prof. Pascal Marchand por todo o apoio no doutorado sanduíche e na co-tutela internacional, pelo auxílio e conhecimento transmitido em todas as dificuldades encontradas, pelo contágio de alegria e perseverança.

Aos membros do LASOF, os amigos Eduarda, Jéssica e Felipe pelos momentos compartilhados na bancada e na vida. Aos ICs Milena, Bruna, Lucas Nascimento, Agamenom, Lucas Lima e Clériston pela colaboração essencial e também àqueles que já passaram pelo laboratório, mas, sem dúvida, deixaram suas contribuições (Leilane, Natanael, Lucas Silva, Adriano, Ronmilson).

Aos integrantes do IICiMed por estarem presentes na minha estadia na França e fazerem todos os momentos serem especiais, em especial à Marie-Renée, Karen. Aos colegas doutorandos Ousmane e Hung, que muito me ajudaram no período e, à Arsênio por todo suporte, amizade e rizadas não somente durante este período

À Pós-Graduação em Inovação Terapêutica pela oportunidade em realizar este projeto bem como a todo o seu Corpo Docente pelos conhecimentos transmitidos. Ao secretário da Pós-Graduação, Paulo Germano por sempre estar disponível para me ajudar.

À Profa. Dra. Valéria Hernandez e sua equipe (Aline, Ana Catarina e Elis), pela execução e orientação dos testes biológicos.

À Profa. Teresinha pela confiança em mim depositada para ser a primeira aluna integrante do Projeto CAPES-COFECUB a realizar o doutorado sanduíche.

Ao Prof. Fernando Hallwass pela ajuda nos estudos espectroscópicos e por todo o ensinamento dado a mim.

À Profa. Maria do Carmo pela doação inicial de tiazolidina-2,4-diona.

Ao LTM – UFPE, nas pessoas do Prof. Dr. Pedro Rolim, do técnico Lourenço, da aluna Laysa Barros e da aluna Andréa e todos os outros envolvidos na obtenção dos espectros de infravermelho solicitados.

À Central Analítica do DQF-UFPE, especialmente às técnicas Abene e Eliete por realizarem as análises de RMN.

Ao LAC – UFPE pela realização de algumas análises de infravermelho.

Ao CETENE pela realização das análises de massas de alta resolução, nas pessoas da técnica Júlia Campos e da estagiária Isabela.

Ao CNPq por garantir a viabilidade do projeto através de seus financiamentos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À minha família, meus pais (Paulo e Dionisia), às minhas irmãs (Mágda e Maísa) por todo o apoio e amor em todos momentos. À minha avó Gertrudes e ao meu avô Fernando (*in memoriam*) por tudo que fizeram por mim para chegar até aqui.

Ao meu esposo Victor por sempre estar ao meu lado em todos os momentos (fáceis ou difíceis), pelo amor e pelo companheirismo de sempre.

À todos que estiveram envolvidos direta ou indiretamente na execução deste trabalho.

Não é sobre ter todas pessoas do mundo pra si
É sobre saber que em algum lugar alguém zela por ti
É sobre cantar e poder escutar mais do que a própria voz
É sobre dançar na chuva de vida que cai sobre nós

É saber se sentir infinito
Num universo tão vasto e bonito é saber sonhar
Então, fazer valer a pena cada verso
Daquele poema sobre acreditar

Não é sobre chegar no topo do mundo e saber que venceu
É sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu
É sobre ser abrigo e também ter morada em outros corações
E assim ter amigos contigo em todas as situações

A gente não pode ter tudo
Qual seria a graça do mundo se fosse assim?
Por isso, eu prefiro sorrisos
E os presentes que a vida trouxe pra perto de mim

Não é sobre tudo que o seu dinheiro é capaz de comprar
E sim sobre cada momento sorriso a se compartilhar
Também não é sobre correr contra o tempo pra ter sempre mais
Porque quando menos se espera a vida já ficou pra trás

Segura teu filho no colo
Sorria e abraça teus pais enquanto estão aqui
Que a vida é trem-bala, parceiro
E a gente é só passageiro prestes a partir

Ana Vilela
(Trem-Bala)

RESUMO

As doenças negligenciadas atingem milhões de pessoas em todo o mundo. Dentre essas estão a Doença de Chagas e a Leishmaniose. A Doença de Chagas é causada por um protozoário, o *Trypanosoma cruzi* e sua principal forma de transmissão é através das fezes do inseto comumente conhecido como barbeiro. A Leishmaniose pode ser causada por mais de 20 tipos de parasitas do gênero *Leishmania* e existem 3 tipos da doença, Leishmaniose Cutânea, Leishmaniose Cutâneo-Mucosa ou Tegumentar e Leishmaniose Visceral. Para o tratamento destas doenças inúmeros problemas existem, como a grande quantidade de efeitos colaterais, baixa atividade na fase crônica da doença, via de administração e aparecimento de cepas resistentes. A literatura descreve bons resultados biológicos dos núcleos 2-isoxazolina, imidazo[1,2-a]pirazina, tiazolidina-2,4-diona, tiazolidinona e tiossemicarbazona com inúmeras atividades biológicas importantes, incluindo a atividade antiparasitária. Diante desses resultados foram obtidas, através da hibridização molecular, duas séries de novas moléculas híbridas, 2-isoxazolina azabicíclica/tiazolidina-2,4-diona e a série 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiossemicarbazona/ 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidinona e 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidina-2,4-diona. O núcleo central da série 2-isoxazolina azabicíclica foi sintetizado a partir da cicloadição 1,3-dipolar entre enamidas endocíclicas e o Óxido de Carboetóxi-formonitrila (CEFNO). Os ésteres isoxazolínicos foram obtidos e em seguida foram reduzidos aos respectivos álcoois pelo NaBH₄ e então a partir desses foram sintetizados os aldeídos isoxazolínicos através da oxidação de Swern. Paralelamente, a tiazolidina-2,4-diona foi sintetizada, assim como seus derivados. Para a obtenção das moléculas híbridas finais, foi feita uma condensação de Knoevenagel entre os aldeídos isoxazolínicos e as tiazolidinas-2,4-dionas. O núcleo central da série 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina foi sintetizado tendo a 2-aminopirazina como material de partida. Essa série deve modelização nas posições 2 e 3 do núcleo central. De forma similar a série 2-isoxazolina, um éster foi obtido e então ele foi reduzido ao respectivo álcool que então foi oxidado pelo MnO₂ ao respectivo aldeído. A partir desses aldeídos, diferentes reações foram realizadas para obter os derivados híbridos da série. Todas as moléculas finais obtidas foram caracterizadas por métodos espectrométricos (RMN de ¹H e ¹³C, IV-ATR e massas) e tiveram suas características físico-químicas determinadas. As duas séries de moléculas tiveram a atividade antiparasitária determinada frente aos parasitas *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania amazonensis*, *Leishmania infantum* e *Leishmania major*, assim como, a citotoxicidade delas foi determinada em macrófagos e em células HeLa. As moléculas da série 2-isoxazolina azabicíclica apresentaram atividade anti-*Leishmania* para ambas as espécies testadas, sendo mais efetivas contra a *L. major*. As moléculas da série 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina não se apresentaram ativas para nenhuma das espécies de *Leishmania* testadas. Algumas moléculas de ambas as séries apresentaram resultados promissores frente às formas evolutivas do parasita *T. cruzi*. A maioria das moléculas foram inativas ou com IC₅₀ superior ao benznidazol sob a forma amastigota.

Palavras chaves: 2-isoxazolina. imidazo[1,2-a]pirazina. *Trypanosoma cruzi*. Leishmaniose. Tiazolidina-2,4-diona.

ABSTRACT

Neglected diseases reach millions of people around the world. Among these are Chagas disease and Leishmaniasis. Chagas disease is caused by a protozoan, the *Trypanosoma cruzi* and its main form of transmission is through the faeces of the insect commonly known as barber. Leishmaniasis can be caused by more than 20 types of parasites of the genus *Leishmania* and there are 3 types of the disease, Cutaneous Leishmaniasis, Cutaneous-Mucous or Tegumentary Leishmaniasis, and Visceral Leishmaniasis. For the treatment of these diseases numerous problems exist, such as the large amount of side effects, low activity in the chronic phase of the disease, route of administration and appearance of resistant strains. The literature describes good biological results of 2-isoxazoline, imidazo[1,2-a]pyrazine, thiazolidine-2,4-dione, thiazolidinone and thiosemicarbazone nuclei with numerous important biological activities, including antiparasitic activity. In view of these results two series of novel hybrid molecules, 2-isoxazoline azabicyclic / thiazolidine-2,4-dione and the 5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarbazone, 5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone and 5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidine-2,4-dione series were obtained through molecular hybridization. The central nucleus of the azabicyclic 2-isoxazoline series was synthesized from 1,3-dipolar cycloaddition between encyclic endocyclic enamides and Carboethoxiformonitrile Oxide (CEFNO). The isoxazoline esters were obtained and then reduced to the respective alcohols by NaBH₄ and from these the isoxazoline aldehydes were synthesized by the Swern oxidation. In parallel, the thiazolidine-2,4-dione was synthesized, as well as its derivatives. To obtain the final hybrid molecules, Knoevenagel was condensed between the isoxazoline aldehydes and the thiazolidines-2,4-diones. The central nucleus of the 5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine series was synthesized having the 2-aminopyrazine as the starting material. This series should model in positions 2 and 3 of the central nucleus. In a manner similar to the 2-isoxazoline series, an ester was obtained and then it was reduced to the respective alcohol which was then oxidized by MnO₂ to the respective aldehyde. From these aldehydes, different reactions were performed to obtain the hybrid derivatives of the series. All the final molecules obtained were characterized by spectrophotometric methods (¹H and ¹³C NMR, IR-ATR and masses) and had their physicochemical characteristics determined. The two series of molecules had the antiparasitic activity determined against the parasites *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania amazonensis*, *Leishmania infantum* and *Leishmania major*, as well as, their cytotoxicity was determined in macrophages and HeLa cells. The molecules of the azabicyclic 2-isoxazoline series showed anti-*Leishmania* activity for both species tested, being more effective against *L. major*. The molecules of the series 5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine were not active for any of the *Leishmania* species tested. Some molecules from both series showed promising results in view of the evolutionary forms of the parasite *T. cruzi*. The majority of the molecules being inactive or with an IC₅₀ higher than benzinidazole in amastigote form.

Key words: 2-isoxazoline. imidazo[1,2-a]pyrazine. *Trypanosoma cruzi*. Leishmaniasis. Thiazolidine-2,4-dione.

RESUMÉ

Les maladies négligées touchent des millions de personnes dans le monde. Parmi ceux-ci figurent la maladie de Chagas et la leishmaniose. La maladie de Chagas est causée par un protozoaire, le *Trypanosoma cruzi*, et sa principale forme de transmission se fait par les matières fécales de l'insecte, communément appelé coiffeur. La leishmaniose peut être causée par plus de 20 types de parasites du genre *Leishmania* et il en existe 3 types, la leishmaniose cutanée, la leishmaniose cutanée-muqueuse ou tégumentaire et la leishmaniose viscérale. Pour le traitement de ces maladies, il existe de nombreux problèmes, tels que la quantité d'effets secondaires, la faible activité dans la phase chronique de la maladie, la voie d'administration et l'apparition de souches résistantes. La littérature décrit de bons résultats biologiques pour les noyaux de 2-isoxazoline, d'imidazo[1,2-a]pyrazine, de thiazolidine-2,4-dione, de thiazolidinone et de thiosemicarbazone, y compris une activité antiparasitaire. Au vu de ces résultats, deux séries de nouvelles molécules hybrides, la 2-isoxazoline azabicyclique / thiazolidine-2,4-dione et la série 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarbazone, 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone et 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidine-2,4-dione ont été obtenues par hybridation moléculaire. Le noyau central de la série azabicyclique 2-isoxazoline a été synthétisé à partir de la cycloaddition 1,3-dipolaire entre les énammides endocycliques encycliques et l'oxyde de carboéthoxiformonitrile (CEFNO). Les esters d'isoxazoline ont été obtenus et ensuite réduits en alcools respectifs par NaBH_4 et à partir de ceux-ci, les isoxazoline aldéhydes ont été synthétisés par oxydation de Swern. En parallèle, la thiazolidine-2,4-dione a été synthétisée, ainsi que ses dérivés. Pour obtenir les molécules hybrides finales, Knoevenagel a été condensé entre les isoxazoline aldéhydes et les thiazolidines-2,4-diones. Le noyau central de la série 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine a été synthétisé avec la 2-aminopyrazine comme matière de départ. Cette série devrait modéliser les positions 2 et 3 du noyau central. D'une manière similaire à la série 2-isoxazoline, un ester a été obtenu puis il a été réduit en alcool respectif qui a ensuite été oxydé par MnO_2 en aldéhyde respectif. A partir de ces aldéhydes, différentes réactions ont été réalisées pour obtenir les dérivés hybrides de la série. Toutes les molécules finales obtenues ont été caractérisées par des méthodes spectrophotométriques (RMN ^1H et ^{13}C , IR-ATR et masses) et leurs caractéristiques physico-chimiques ont été déterminées. Les deux séries de molécules avaient l'activité antiparasitaire déterminée contre les parasites *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania amazonensis*, *Leishmania infantum* et *Leishmania major*, ainsi que leur cytotoxicité a été déterminée dans les macrophages et les cellules HeLa. Les molécules de la série azabicyclique 2-isoxazoline ont montré une activité anti-*Leishmania* pour les espèces testées, étant plus efficaces contre *L. major*. Les molécules de la série 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine n'étaient actives pour aucune des espèces de *Leishmania* testées. Certaines molécules des deux séries ont montré des résultats prometteurs au vu des formes évolutives du parasite *T. cruzi*. La majorité des molécules étant inactive ou avec une IC_{50} supérieure au benzinidazole sous les formes amastigote.

Mots clés: 2-isoxazoline. imidazo[1,2-a]pyrazine. *Trypanosoma cruzi*. Leishmaniose. Thiazolidine-2,4-dione.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATR: Reflectância Total Atenuada
BKR - Boulton– Katritzky Rearrangement
CCD: Cromatografia em Camada Delgada
CDC: Centro de Controle de Doenças e Prevenção
CEFNO: Óxido de carboetoxiformonitrila
DIBAL-H: Diisobutylaluminium hydride
DMF: Dimetilformamida
DMSO: Dimetilsulfóxido
DTN: Doenças Tropicais Negligenciadas
FOM: Orbitais Moleculares de Fronteira
FT: Transformada de Fourier
HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HOMO: Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia
HSQC: Heteronuclear Single Quantum Coherence
IV: Infravermelho
LC: leishmaniose cutânea
LMC: Leishmaniose muco-cutânea
LT: Leishmaniose tegumentar
LUMO: Orbital Molecular Não-Ocupado de Menor Energia
LV: leishmaniose visceral
NADPH: Fosfato de Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina
OMS: Organização Mundial de Saúde
PDB: Protein Data Bank
PF: Ponto de Fusão
PTR-1: Pteridina Redutase 1
R_f: Fator de retenção
RMN: Ressonância Magnética Nuclear
SIDA: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
TEA: Trietilamina
THF: Tetrahidrofurano
UV: Ultravioleta

WHO: World Health Organization

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 01. Exemplo de reação de cicloadição 1,3-dipolar (DE ALMEIDA et al., 2009).	60
Esquema 02. Reação de obtenção do núcleo 2-isoxazolina realizada por Ismail et al (2015). Dados: a) NCS, DMF, t.a., 1h.	61
Esquema 03. Representação genérica da síntese de 3-acilamino-isoxazolininas 17 a partir de 1,2,4-oxadiazóis 16 realizada por Piccionello et al em 2013.....	61
Esquema 04. Síntese de isoxazolininas fenantridinas funcionalizadas sintetizadas por Yang et al em 2014.	62
Esquema 05. Síntese de tiazolidina-2,4-dionas realizada por Mishra, Sachan & Chawla, em 2015.	63
Esquema 06. Síntese do núcleo tiazolidina-2,4-diona realizada por Alegaon & Alagawadi, em 2012.....	64
Esquema 07. Esquema da síntese de imidazo[1,2-a]pirazina e mecanismo proposto realizados por Roe e colaboradores (2018).	65
Esquema 08. Síntese de derivados imidazo[1,2-a]pirazina a partir de reação multicomponente realizada por Mckeown e colaboradores (2014).	66
Esquema 09. Síntese geral de tiossemicarbazonas a partir da reação de aldeídos aromáticos e tiossemicarbazida realizada por Da Silva Santos e colaboradores (2017). Função tiossemicarbazona destacada na molécula final.	66
Esquema 10. Síntese multicomponente de tiossemicarbazonas realizada por Cunha Silva em 2009.....	67
Esquema 11. Síntese de 4-tiazolidinonas a partir de tiossemicarbazonas com cloroacetato de etila e acetato de sódio anidro em etanol realizada por Küçükgüzel e colaboradores (2006).	67
Esquema 12. Síntese dos aldeídos isoxazolínicos 52a-g . Reagentes e condições: a) Clorooxiimidoacetato de etila, TEA (anidra), THF (anidro), 30 min, t.a.; b) NaBH ₄ , MeOH (anidro), 1 hora a 0 °C e depois 1 hora a t.a.; c) DMSO (anidro), cloreto de oxalila, TEA (anidra), 27 min, -70 °C.....	69
Esquema 13. Rota sintética para obtenção dos novos derivados isoxazolínicos/tiazolidina-2,4-diona 56a-g e 57a-u . Reagentes e condições: AcONa anidro, AcOH glacial, 130 °C, 2horas.....	70

Esquema 14. Rotas alternativas para a síntese do éster isoxazolínic. Rota vermelha: a síntese a partir do enecarbamato possui 3 etapas. Rota azul: a síntese a partir das enamidas possui uma etapa.....	74
Esquema 15. Provável mecanismo reacional da oxidação de Swern dos álcoois isoxazolínicos 49a-g e formação dos aldeídos isoxazolínicos 52a-g	79
Esquema 16. Possível mecanismo de síntese dos novos derivados isoxazolidinas-tiazolidina-2,4-diona 56a-g e 57a-u (Condensação de Knoevenagel).	83
Esquema 17. Rota genérica da obtenção dos derivados híbridos 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiossemicarbazona 75a-x , 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidinona 77a,b e 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidina-2,4-diona 78a-r	157
Esquema 18. Mecanismo de reação da formação da imidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxilato de etila 64a a partir da 2-aminopirazina 58 e do bromopiruvato de etila 59	159
Esquema 19. Esquema reacional de formação de Vilsmeier-Haak da imidazo[1,2-a]pirazina.....	159
Esquema 20. Esquema geral da obtenção da imidazo[1,2-a]pirazina com aldeído em C3 a partir da reação de obtenção da nitrila na mesma posição e redução desta com o DIBAL-H.	160
Esquema 21. Esquema geral da obtenção do imidazo[1,2-a]pirazina-3-carboxilato de etila 64b	160
Esquema 22. Mecanismo geral da formação da tiossemicarbazona pela condensação entre um aldeído e o derivado tiossemicarbazida correspondente, sob catálise ácida.	165
Esquema 23. Mecanismo de síntese do núcleo tiazolidinona a partir da reação do derivado correspondente tiossemicarbazona com o bromoacetato de etila.	169

LISTE DES SCHÉMAS (RESUMÉ)

Schéma 01. Exemple de réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire (DE ALMEIDA et al., 2009).	283
Schéma 02. Synthèse d'isoxazolines de phénanthridines fonctionnalisées synthétisées par Yang et al en 2014.	283
Schéma 03. Synthèse de la thiazolidine-2,4-dione par Mishra, Sachan et Chawla en 2015.	285
Schéma 04. Schéma de synthèse de l'imidazo[1,2-a]pyrazine et mécanisme proposé mis en œuvre par Roe et Claboradores (2018).	286
Schéma 05. Synthèse de dérivés d'imidazo[1,2-a]pyrazine à partir d'une réaction à plusieurs composants réalisée par Mckeown et ses collaborateurs (2014).	287
Schéma 06. Synthèse de 4-thiazolidinones à partir de thiosemicarbazones avec du chloroacétate d'éthyle et de l'acétate de sodium anhydre dans de l'éthanol, par Küçükgüzel et ses collaborateurs (2006).	288
Schéma 07. Synthèse de les isoxazoline aldéhydes 52a-g . Réactifs et conditions : (a) chlorooxyacétatéthylacétate d'éthyle, TEA (anhydre), THF (anhydre), 30 min, t.a.; b) NaBH ₄ , MeOH (anhydre), 1 heure à 0 ° C, puis 1 heure à la température ambiante c) DMSO (anhydre), chlorure d'oxalyle, TEA (anhydre), 27 min, -70 ° C.	290
Schéma 08. Voie de synthèse pour obtenir de nouveaux dérivés d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione 56a-g et 57a-u . Réactifs et conditions : AcONa anhydre, AcOH glacial, 130 ° C, 2 heures.	291
Schéma 09. Voies alternatifs pour la synthèse d'esters d'isoxazoline. Route rouge : La synthèse de l'énécabamate comporte 3 étapes. Route bleue : La synthèse à partir des énamides comporte une étape.	295
Schéma 10. Mécanisme possible de synthèse des nouveaux dérivés des isoxazolines-thiazolidine-2,4-dione 56a-g et 57a-u (condensation de Knoevenagel).	303
Schéma 11. Voie générique d'obtention de 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarbazone 75a-x , 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone 77a,b et de 5 dérivés hybrides 6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidine-2,4-dione 78a-r	311

Schéma 12. Mécanisme réactionnel de la formation de l'imidazo[1,2-a]pyrazine-2-carboxylate d'éthyle 64a à partir d'éthyl 2-aminopyrazine 58 et d'éthyl bromopyruvate 59	313
Schéma 13. Schéma de réaction de Vilsmeier-Haak de l'imidazo[1,2-a]pyrazine...313	
Schéma 14. Schéma général d'obtention de l'imidazo[1,2-a]pyrazine avec l'aldéhyde en C3 à partir de la réaction consistant à obtenir un nitrile dans la même position et à le réduire avec DIBAL-H.....	314
Schéma 15. Schéma général d'obtention de l'imidazo[1,2-a]pyrazine-3-carboxylate d'éthyle 64b	314
Schéma 16. Mécanisme de synthèse du noyau thiazolidinone à partir de la réaction du dérivé de thiosemicarbazone correspondant avec le bromoacétate d'éthyle.	322

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 — Moléculas híbridas contendo os núcleos 2-isoxazolina aza-bicíclica (verde), tiazolidina-2,4-diona (azul), imidazo[1,2-a]pirazina (vermelho), tiosemicarbazina (rosa) e tiazolidinona (laranja).	47
Figura 02 — Distribuição dos casos de infecção pelo <i>Trypanosoma cruzi</i> , com base em estimativas oficiais e status de transmissão vetorial, no mundo, 2006-2009. Fonte: WHO – World Health Organization. (Adaptado de: http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/GI	49
Figura 03 — A. <i>Trypanosoma cruzi</i> (forma tripomastigota). B. <i>Triatoma infestans</i> (Barbeiro). (Adaptado de: http://www.cdc.gov/parasites/chagas/index.html)	50
Figura 04 — Ciclo evolutivo do <i>Trypanosoma cruzi</i> . (Adaptado de: http://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html)	50
Figura 05 — Benznidazol 1 e Nifurtimox 2 , fármacos antichagásicos.	52
Figura 06 — Lesão ulcerativa de Leishmaniose cutânea. Fonte: (HANDLER et al., 2015)	54
Figura 07 — Situação endêmica mundial da Leishmaniose cutânea em 2016. Adaptado de: OMS.....	54
Figura 08 — Paciente com lesão ulcerativa necrótica, causada pela leishmaniose muco-cutânea, situada na narina direita e lábio superior. Fonte: (CROVETTO-MARTÍNEZ et al., 2015)	55
Figura 09 — Paciente com leishmaniose visceral que apresenta grande esplenomegalia. Fonte: (VAN GRIENSVEN; DIRO, 2012)	55
Figura 10 — Situação endêmica mundial da Leishmaniose visceral em 2016. Adaptado de: OMS	56
Figura 11 — Ciclo de vida do parasita <i>Leishmania spp.</i> Adaptado de: Central Disease Control (CDC).....	57
Figura 12 — Imagem de microscopia óptica da preparação de toque de uma lesão cutânea onde é possível visualizar a presença de parasitas (forma amastigota) dentro de macrófagos. Adaptado de: (MCGWIRE; SATOSKAR, 2014).	58
Figura 13 — Estruturas químicas de substâncias utilizadas no tratamento da leishmaniose.	58

Figura 14 — Tipos de isoxazolinas: 4-isoxazolina, 3-isoxazolina, 2-isoxazolina (em destaque), isoxazol e isoxazolidina, respectivamente.....	59
Figura 15 — Exemplo de moléculas biologicamente ativas que contém o grupo 2-isoxazolina.....	60
Figura 16 — Núcleo tiazolidina-2,4-diona e os fármacos Rosiglitazona 21 e Pioglitazona 22	62
Figura 17 — Representação geral dos derivados 5-Arilideno-2,4-tiazolidinadionas 23 sintetizados por Nastasa et al em 2013.	63
Figura 18 — Estrutura básica da imidazo[1,2-a]pirazina e moléculas descritas na literatura contendo este núcleo com atividade biológica comprovada.....	64
Figura 19 — Trimerização da 1-pirrolina 42a : formação do trímero 43 à temperatura ambiente.....	71
Figura 20 — Dimerização do CEFNO.	76
Figura 21 — Proposta do mecanismo da cicloadição 1,3-dipolar entre enamidas endocíclicas ou enecarbamatos com o <i>N</i> -óxido de nitrila CEFNO.	77
Figura 22 — Espectro de RMN de ^1H do aldeído isoxazolíxico 52d com destaque os picos correspondentes a alguns hidrogênios presentes na molécula.	80
Figura 23 — Espectro de ^1H RMN da tiazolidina-2,4-diona <i>N</i> -acilada 55a	82
Figura 24 — RMN de ^1H da nova molécula híbrida isoxazolina/tiazolidina-2,4-diona 56d	85
Figura 25 — Espectro de RMN ^{13}C da molécula híbrida isoxazolina/tiazolidina-2,4-diona 56d obtido a 27°C.....	86
Figura 26 — Espectro de RMN ^{13}C da molécula híbrida isoxazolina/tiazolidina-2,4-diona 56d obtido a 65°C.....	86
Figura 27 — Espectro de RMN por correlação HMBC da molécula híbrida isoxazolina/tiazolidina-2,4-diona 56d obtido a 65°C.....	87
Figura 28 — Espectro de RMN de ^{13}C acoplado a ^1H da molécula híbrida isoxazolina/tiazolidina-2,4-diona 56d obtido a 27°C.....	88
Figura 29 — Espectro de RMN de ^1H da molécula 71f obtido no solvente DMSO- d_6	163
Figura 30 — Espectro de RMN de ^{13}C da molécula 71f obtido no solvente DMSO- d_6	164

Figura 31 — Espectro de RMN de ^1H da molécula 75v obtido no solvente DMSO-d6.	166
Figura 32 — Espectro de massas HR-ESI-MS (UFLC-MS (IT-TOF)) do composto 75v .	167
Figura 33 — Espectro de RMN de ^{13}C da molécula 75v obtido no solvente DMSO-d6.	168
Figura 34 — Espectro de RMN de ^1H da molécula 78b obtido no solvente DMSO-d6.	171
Figura 35 — Espectro de RMN de ^{13}C da molécula 78b obtido no solvente DMSO-d6.	172

LISTE DES FIGURES (RESUMÉ)

Figure 01 — Molécules hybrides contenant les noyaux 2-isoxazoline aza-bicycliques (en vert), la thiazolidine-2,4-dione (en bleu), l'imidazo [1,2-a] pyrazine (en rouge), la thiosemicarbazine (en rose) et la thiazolidinone (orange).	273
Figure 02 — Répartition des cas d'infection à <i>Trypanosoma cruzi</i> d'après les estimations officielles et l'état de transmission du vecteur, 2006-2009. Source : OMS - Organisation mondiale de la santé. (Adapté de: http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/GI	274
Figure 03 — A. <i>Trypanosoma cruzi</i> (forme trypomastigote). B. <i>Triatoma infestans</i> (Barber). (Adapté de: http://www.cdc.gov/parasites/chagas/index.html)	275
Figure 04 — Cycle évolutif de <i>Trypanosoma cruzi</i> . (Adapté de : http://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html)	275
Figure 05 — Benzinidazole 1 et Nifurtimox 2 , médicaments antichagasiqes.	276
Figure 06 — Cycle de vie du parasite <i>Leishmania spp.</i> Adapté de: Central Disease Control (CDC).....	280
Figure 07 — Structures chimiques des substances utilisées dans le traitement de la leishmaniose.	281
Figure 08 — Des exemples de molécules biologiquement actives contenant le groupe 2-isoxazoline.	282
Figure 09 — Thiazolidine-2,4-dione noyau et les molécules Rosiglitazone 21 et Pioglitazone 22	284
Figure 10 — Structure basique de l'imidazo [1,2-a] pyrazine et des molécules décrites dans la littérature contenant ce noyau à activité biologique prouvée.	285
Figure 11 — Trimérisation de la 1-pyrroline 42a : Formation du trimère 43 à la température ambiante.	292
Figure 12 — Dimérisation du CEFNO.	297
Figure 13 — Mécanisme de cycloaddition 1,3-dipolaire proposé entre énamides ou énécarbamates endocycliques et nitrile N-oxyde CEFNO.....	298
Figure 14 — Spectre RMN ¹ H de la thiazolidine-2,4-dione N-acylée 55a	302
Figure 15 — RMN ¹ H d'une nouvelle molécule hybride d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione 56d	305

Figure 16 — Spectre RMN ^{13}C de la molécule hybride d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione 56d obtenue à 27 °C.	306
Figure 17 — Spectre RMN ^{13}C de la molécule hybride d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione 56d obtenue à 65 °C.	307
Figure 18 — Spectre RMN de corrélation HMBC de la molécule hybride d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione 56d obtenue à 65 °C.	308
Figure 19 — Spectre RMN ^{13}C couplé à ^1H de la molécule hybride d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione 56d obtenue à 27 °C.	308
Figure 20 — Spectre RMN ^1H de la molécule 71f obtenue dans le solvant DMSO-d6.	317
Figure 21 — Spectre RMN ^{13}C de la molécule 71f obtenue dans le solvant DMSO-d6.	318
Figure 22 — Spectre RMN ^1H de la molécule 75v obtenue dans le solvant DMSO-d6.	320
Figure 23 — Spectre de masse HR-ESI-MS (UFLC-MS (IT-TOF)) du composé 75v	320
Figure 24 — Spectre RMN ^{13}C de la molécule 75v obtenue dans le solvant DMSO-d6.	321
Figure 25 — Spectre RMN ^1H de la molécule 78b obtenue dans le solvant DMSO-d6.	325
Figure 26 — Spectre RMN ^{13}C de la molécule 78b obtenue dans le solvant DMSO-d6.	326

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01. Valores de IC ₅₀ das moléculas da série 57 que apresentaram atividade anti-leishmania.	251
Gráfico 02. Resultado do teste antileishmania contra a forma promastigota de <i>L. major</i> das moléculas ativas da Série 57	253
Gráfico 03. Citotoxicidade, em µM, da da série 2-isoxazolina azabíclica 56 e 57 determinados em macrófagos e em MRC5.....	265

LISTA DES GRAPHIQUES (RESUMÉ)

Graphique 01. Valeurs IC ₅₀ des molécules de la série 57 montrant une activité anti-leishmania.	336
Graphique 02. Résultat du test antileishmania contre la forme promastigote de <i>L. major</i> des molécules actives de la série 57	338
Graphique 03. Cytotoxicité, en μM , des séries des 2-isoxazolines azabicycliques 56 et 57 déterminée dans les macrophages et MRC5.	351

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Rendimentos obtidos na síntese de enamida <i>N</i> -aril-substituídas 45a-g através do ultrassom e através da co-destilação do trímero (Dos Santos, 2003).	73
Tabela 02. Rendimentos obtidos nas reações de cicloadição 1,3-dipolar	76
Tabela 03. Rendimentos obtidos nas reações de redução dos ésteres isoxazolínicos 48a-g aos respectivos álcoois 49a-g	78
Tabela 04. Rendimentos obtidos na síntese dos aldeídos isoxazolínicos 52a-g	80
Tabela 05. Rendimentos obtidos na síntese das novas moléculas híbridas isoxazolina/tiazolidina-2,4-diona condensadas com a tiazolidina-2,4-diona 53 e o derivado tiazolidina-2,4-diona 55a-c	84
Tabela 06. Rendimentos dos compostos 67 , 68 e 69	162
Tabela 07. Rendimento de obtenção das novas moléculas híbridas 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina/tiossemicarabazona 75a-x	165
Tabela 08. Rendimentos da obtenção dos novos derivados híbridos 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina/tiazolidinona 77	169
Tabela 09. Rendimento de obtenção das novas moléculas híbridas 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina/tioazolidina-2,4-diona 78a-r	170
Tabela 10. Resultados da atividade anti-Leishmania contra <i>L. amazonensis</i> e <i>L. infantum</i> e IC ₅₀ dos compostos 56a-g e 57a-u	250
Tabela 11. Resultados da atividade anti-Leishmania contra a forma promastigota de <i>L. major</i> dos compostos 56a-g e 57a-u	252
Tabela 12. Resultado da atividade antileishmania (IC ₅₀ em µM) contra <i>L. amazonensis</i> e <i>L. infantum</i> dos derivados híbridos 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina/tiossemicarabazona 75a-x	254
Tabela 13. Resultado da atividade antileishmania (IC ₅₀ em µM) contra <i>L. amazonensis</i> e <i>L. infantum</i> dos derivados híbridos 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina/tiazolidinona 77a,b	255
Tabela 14. Resultado da atividade antileishmania (IC ₅₀ em µM) contra <i>L. amazonensis</i> e <i>L. infantum</i> dos derivados híbridos 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina/tiazolidina-2,4-diona 78a-r	256
Tabela 15. Resultado da avaliação anti-Trypanossoma (IC ₅₀ - µM) das Séries 56a-g e 57a-u	259

Tabela 16. Resultado da determinação da IC ₅₀ para avaliação da atividade anti-trypanossoma das moléculas 75a-x .	260
Tabela 17. Resultado da determinação da IC ₅₀ para avaliação da atividade anti-trypanossoma das moléculas 77 .	261
Tabela 18. Resultado da determinação da IC ₅₀ para avaliação da atividade anti-trypanossoma das moléculas 78a-r .	262
Tabela 19. Valores da citotoxicidade (CC ₅₀ - µM) das moléculas da série 2-isoxazolina azabiccílica 56a-g e 57a-u determinados em macrófagos e em MRC5.	264
Tabela 20. Valores da citotoxicidade (CC ₅₀ - µM) das moléculas da série 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina 75a-x , 77a,b e 78a-r determinados em macrófagos.	267

LISTE DES TABLEAUX (RESUMÉ)

Tableau 01. Rendements obtenus à partir de la synthèse de l'énamide <i>N</i> -aryle substitué 45 par ultrasons et co-distillation du trimère (Dos Santos, 2003).....	294
Tableau 2. Rendements obtenus à partir de réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire.	297
Tableau 03. Rendements des réactions de réduction des esters d'isoxazoline 48a-g en leurs alcools 49a-g	299
Tableau 04. Rendements obtenus lors de la synthèse des aldéhydes d'isoxazoline 50a-g	300
Tableau 05. Rendement obtenu dans la synthèse des nouvelles molécules hybrides d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione condensées avec de la thiazolidine-2,4-dione 53 et du dérivé de thiazolidine-2,4-dione 55a-c	304
Tableau 06. Rendements des composés 67 , 68 et 69	316
Tableau 07. Rendement de l'obtention de nouvelles molécules hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarabazone 75a-x	319
Tableau 08. Résultats de l'obtention de nouveaux dérivés hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone 77	323
Tableau 09. Rendement de l'obtention de nouvelles molécules hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thioazolidine-2,4-dione 78a-r	324
Tableau 10. Résultats de l'activité anti-Leishmania contre <i>L. amazonensis</i> et <i>L. infantum</i> et IC ₅₀ des composés 56a-g et 57a-u	335
Tableau 11. Résultats de l'activité anti-Leishmania contre la forme promastigote de <i>L. major</i> des composés 56a-g et 57a-u	337
Tableau 12. Résultat de l'activité antileishmania (IC ₅₀ en µM) contre <i>L. amazonensis</i> et <i>L. infantum</i> des dérivés hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarabazone 75a-x	339
Tableau 13. Résultat de l'activité antileishmania (IC ₅₀ en µM) contre <i>L. amazonensis</i> et <i>L. infantum</i> à partir des dérivés hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone 77a,b	340

Tableau 14. Résultat de l'activité antileishmania (IC_{50} en μM) contre <i>L. amazonensis</i> et <i>L. infantum</i> des dérivés hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidine-2,4-dione 78a-r	341
Tableau 15. Résultat de l'évaluation anti- <i>Trypanosome</i> (IC_{50} - μM) des séries 56a-g et 57a-u	344
Tableau 16. Résultat de la détermination de la CI_{50} pour évaluer l'activité anti-trypanosomienne de molécules 75a-x	345
Tableau 16. Résultat de la détermination de la CI_{50} pour évaluer l'activité anti-trypanosomienne de molécules 75a-x . (Continuation)	346
Tableau 17. Résultat de la détermination de la CI_{50} pour évaluer l'activité anti-trypanosomienne de molécules 77	346
Tableau 18. Résultat de la détermination de la CI_{50} pour l'évaluation de l'activité anti-trypanosomienne de molécules 78a-r	348
Tableau 19. Valeurs de cytotoxicité (CC_{50} - μM) des molécules des séries 2-isoxazolines azabicycliques 56a-g et 57a-u déterminées dans les macrophages et MRC5.	350
Tableau 20. Valeurs de cytotoxicité (CC_{50} - μM) des molécules des séries 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine 75a-x , 77a,b et 78a-r déterminées dans les macrophages.....	353

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	46
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	48
2.1. DOENÇA DE CHAGAS	48
2.1.1. Histórico da doença	48
2.1.2. Epidemiologia	48
2.1.3. O parasita: <i>Trypanosoma cruzi</i>	49
2.1.4. Fases, mecanismos de transmissão e prevenção	51
2.1.5. Tratamento para a Doença de Chagas	51
2.2. LEISHMANIOSE	52
2.2.1. A doença e epidemiologia	52
2.2.2. Leishmaniose cutânea (LC)	53
2.2.3. Leishmaniose Muco-cutânea ou Tegumentar (LMC ou LT)	54
2.2.4. Leishmaniose Visceral (LV) ou Calazar	55
2.2.5. O parasita e seu ciclo de vida	56
2.2.6. Diagnóstico e tratamento	57
2.3. ISOXAZOLINA	59
2.3.1. A importância das 2-isoxazolininas	59
2.3.2. Síntese do núcleo 2-isoxazolina	60
2.4. TIAZOLIDINA-2,4-DIONA	62
2.4.1. Síntese de tiazolidina-2,4-dionas	63
2.5. IMIDAZO[1,2-a]PIRAZINA	64
2.5.1. Síntese da imidazo[1,2-a]pirazina	65
2.6. TIOSSEMICARBAZONAS E TIAZOLIDINONAS	66
3. CAPÍTULO 1 – SÉRIE 2-ISOXAZOLINA AZA-BICÍCLICA	68
3.1. OBJETIVOS	68

3.1.1. Objetivo geral	68
3.1.2. Objetivos específicos	68
3.2. METODOLOGIA DA PARTE 1	69
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
3.3.1. Síntese do trímero da 1-pirrolina 43	71
3.3.2. Síntese das enamidas endocíclicas 45a-g	72
3.3.3. Síntese do clorooximidoacetato de etila 47: precursor do CEFNO 47a	74
3.3.4. Síntese racêmica do éster isoxazolínicos 48a-g	75
3.3.5. Síntese dos álcoois isoxazolínicos 49a-g	77
3.3.6. Síntese dos aldeídos isoxazolínicos 52a-g	78
3.3.7. Síntese da tiazolidina-2,4-diona 53	81
3.3.8. Síntese dos derivados tiazolidina-2,4diona N-acilados 55a-c.	81
3.3.9. Condensação dos aldeídos isoxazolínicos 52a-g com as tiazolidinas-2,4-diona 53 e 55a-c	82
3.4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	89
3.4.1. Síntese do trímero da 1-pirrolina 43	90
3.4.2. Síntese das enamidas endocíclicas 45a-g	91
3.4.2.1. Síntese da N-(4-clorobenzoil)-2-pirrolina 45a	91
3.4.2.2. Síntese da N-(4-fluorobenzoil)-2-pirrolina 45b	92
3.4.2.3. Síntese da N-(4-metoxibenzoil)-2-pirrolina 45c	93
3.4.2.4. Síntese da N-(4-terc-butilbenzoil)-2-pirrolina 45d	94
3.4.2.5. Síntese da N-(4-metilbenzoil)-2-pirrolina 45e	95
3.4.2.6. Síntese da N-(4-nitrobenzoil)-2-pirrolina 45f	96
3.4.2.7. Síntese da N-(3-nitrobenzoil)-2-pirrolina 45g	97
3.4.3. Síntese do clorooximidoacetato de etila 47 (precursor do CEFNO)	98
3.4.4. Cicloadição 1,3-dipolar das Enamidas endocíclicas 45a-g com o óxido de carboetoxiformonitrila (CEFNO) 47a.	99

3.4.4.1. Síntese do éster etílico do ácido 6-(4-clorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carboxílico 48a	99
3.4.4.2. Síntese do éster etílico do ácido 6-(4-fluorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carboxílico 48b	101
3.4.4.3. Síntese do éster etílico do ácido 6-(4-metoxibenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carboxílico 48c	102
3.4.4.4. Síntese do éster etílico do ácido 6-(4- <i>terc</i> -butilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carboxílico 48d	103
3.4.4.5. Síntese do éster etílico do ácido 6-(4-metilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carboxílico 48e	104
3.4.4.6. Síntese do éster etílico do ácido 6-(4-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carboxílico 48f	105
3.4.4.7. Síntese do éster etílico do ácido 6-(3-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carboxílico 48g	106
3.4.5. Síntese dos álcoois isoxazolínicos 49a-g	107
3.4.5.1. Síntese do álcool (4-clorofenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidro-pirrolo[3,2-d]isoxazol-6-il-metanona 49a	107
3.4.5.2. Síntese do álcool (4-fluorofenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidro-pirrolo[3,2-d]isoxazol-6-il-metanona 49b	108
3.4.5.3. Síntese do álcool (4-metóxifenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidro-pirrolo[3,2-d]isoxazol-6-il-metanona 49c	109
3.4.5.4. Síntese do álcool (4- <i>terc</i> -butilfenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidro-pirrolo[3,2-d]isoxazol-6-il-metanona 49d	110
3.4.5.5. Síntese do álcool (4-metilfenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidro-pirrolo[3,2-d]isoxazol-6-il-metanona 49e	111
3.4.5.6. Síntese do álcool (4-nitrofenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidro-pirrolo[3,2-d]isoxazol-6-il-metanona 49f	112
3.4.5.7. Síntese do álcool (3-nitrofenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidro-pirrolo[3,2-d]isoxazol-6-il-metanona 49g	113
3.4.6. Síntese dos aldeídos isoxazolínicos 52a-g	114

3.4.6.1. Síntese do 6-(4-clorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carbaldeído 52a	114
3.4.6.2. Síntese do 6-(4-fluorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carbaldeído 52b	115
3.4.6.3. Síntese do 6-(4-metoxibenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carbaldeído 52c	116
3.4.6.4. Síntese do 6-(4- <i>terc</i> -butilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carbaldeído 52d	117
3.4.6.5. Síntese do 6-(4-metilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carbaldeído 52e	118
3.4.6.6. Síntese do 6-(4-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carbaldeído 52f	119
3.4.6.7. Síntese do 6-(3-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carbaldeído 52g	120
3.4.7. Síntese da tiazolidina-2,4-diona 53	121
3.4.8. N-acilação da tiazolidina-2,4-diona 53	122
3.4.8.1. Síntese da 3-[2-(4-clorofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona 55a	122
3.4.8.2. Síntese da 3-[2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona 55b	123
3.4.8.3. Síntese da 3-[2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona 55c	124
3.4.9. Condensação dos aldeídos isoxazolínicos 52a-g com a tiazolidina-2,4-diona 53 e derivados 55a-c	125
3.4.9.1. Síntese da (Z)-5-((6-(4-clorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 56a	125
3.4.9.2. Síntese da (Z)-5-((6-(4-fluorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 56b	127
3.4.9.3. Síntese da (Z)-5-((6-(4-metóxibenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 56c	128
3.4.9.4. Síntese da (Z)-5-((6-(4- <i>terc</i> -butilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 56d	129

3.4.9.5. Síntese da (Z)-5-((6-(4-metilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 56e	131
3.4.9.6. Síntese da (Z)-5-((6-(4-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 56f	132
3.4.9.7. Síntese da (Z)-5-((6-(3-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 56g	133
3.4.9.8. Síntese da (Z)-5-((6-(4-clorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57a	134
3.4.9.9. Síntese da (Z)-5-((6-(4-clorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57b	135
3.4.9.10. Síntese da (Z)-5-((6-(4-clorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57c	136
3.4.9.11. Síntese da (Z)-5-((6-(4-fluorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57d	137
3.4.9.12. Síntese da (Z)-5-((6-(4-fluorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57e	138
3.4.9.13. Síntese da (Z)-5-((6-(4-fluorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57f	139
3.4.9.14. Síntese da (Z)-5-((6-(4-metoxibenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57g	140
3.4.9.15. Síntese da (Z)-5-((6-(4-metóxibenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57h	141
3.4.9.16. Síntese da (Z)-5-((6-(4-metóxibenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57i	142
3.4.9.17. Síntese da (Z)-5-((6-(4- <i>terc</i> -butilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57j	143
3.4.9.18. Síntese da (Z)-5-((6-(4- <i>terc</i> -butilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57k	144

3.4.9.19. Síntese da (Z)-5-((6-(4- <i>terc</i> -butilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3a <i>H</i> -pirrolo[3,2- <i>d</i>]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57l	145
3.4.9.20. Síntese da (Z)-5-((6-(4-metilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3a <i>H</i> -pirrolo[3,2- <i>d</i>]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57m	146
3.4.9.21. Síntese da (Z)-5-((6-(4-metilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3a <i>H</i> -pirrolo[3,2- <i>d</i>]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57n	147
3.4.9.22. Síntese da (Z)-5-((6-(4-metilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3a <i>H</i> -pirrolo[3,2- <i>d</i>]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57o	148
3.4.9.23. Síntese da (Z)-5-((6-(4-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3a <i>H</i> -pirrolo[3,2- <i>d</i>]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57p	149
3.4.9.24. Síntese da (Z)-5-((6-(4-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3a <i>H</i> -pirrolo[3,2- <i>d</i>]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57q	150
3.4.9.25. Síntese da (Z)-5-((6-(4-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3a <i>H</i> -pirrolo[3,2- <i>d</i>]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57r	151
3.4.9.26. Síntese da (Z)-5-((6-(3-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3a <i>H</i> -pirrolo[3,2- <i>d</i>]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57s	152
3.4.9.27. Síntese da (Z)-5-((6-(3-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3a <i>H</i> -pirrolo[3,2- <i>d</i>]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57t	153
3.4.9.28. Síntese da (Z)-5-((6-(3-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3a <i>H</i> -pirrolo[3,2- <i>d</i>]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona 57u	154
4. CAPÍTULO 2 – SÉRIE 5,6,7,8-TETRAHIDROIMIDAZO[1,2-<i>A</i>]PIRAZINA	155
4.1. OBJETIVOS	155
4.1.1. Objetivo Geral	155
4.1.2. Objetivos Específicos	155
4.2. METODOLOGIA	156
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	158
4.3.1. Obtenção do núcleo imidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina substituído com a função éster nas posições C2 e C3	158

4.3.1.1. Obtenção do imidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxilato de etila 64a	158
4.3.1.2. Obtenção do imidazo[1,2-a]pirazina-3-carboxilato de etila 64b	159
4.3.2. Redução do núcleo imidazol da imidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxilato de etila 64a e imidazo[1,2-a]pirazina-3-carboxilato de etila 64b	160
4.3.3. Obtenção do aldeído em C2 e C3: Síntese do 2-formil-5,6-dihidroimidazo[1,2-a]pirazina-7(8<i>H</i>)-carboxilato de <i>terc</i>-butila 69a e do 3-formil-5,6-dihidroimidazo[1,2-a]pirazina-7(8<i>H</i>)-carboxilato de <i>terc</i>-butila 69b.....	161
4.3.4. Obtenção dos derivados aldeídos <i>N</i>-benzoíladados 71a,b	162
4.3.5. Condensação dos aldeídos <i>N</i>-benzoíladados 71a,f com tiossemicarbazidas 74a,f: Obtenção das moléculas híbridas 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiossemicarabazona 75a-x.	164
4.3.6. Ciclização dos derivados tiossemicarbazona 75a,b: Obtenção da dos derivados híbridos 5,6,7,8-tetrahidroimidazo1,2-a]pirazina/tiazolidinona 77a,b	168
4.3.7. Condensação de Knoevenagel: Síntese dos derivados 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidina-2,4-diona 78a-r	170
4.4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	173
4.4.1. Síntese da imidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxilato de etila 64a	174
4.4.2. Síntese da imidazo[1,2-a]pirazina-3-carboxilato de etila 64b	175
4.4.2.1. Síntese do 2-cloro-3-etoxi-3-oxoprop-1-em-1-olato de potássio 63	175
4.4.2.2. Síntese da etil imidazo[1,2-a]pirazina-3-carboxilato 64b	176
4.4.3. Redução da pirazina 64a,b	177
4.4.3.1. Síntese da 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxilato de etila 65a	177
4.4.3.2. Síntese do 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carboxilato de etila 65b	178
4.4.4. Proteção da pirazina reduzida 65a,b com Boc	179
4.4.4.1. Síntese da 7- <i>terc</i> -butil-2-etil-5,6-dihidroimidazo[1,2-a]pirazina-2,7(8 <i>H</i>)-dicarboxilato 67a	179

4.4.4.2. Síntese da 7- <i>tert</i> -butil-3-etil-5,6-dihidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina-3,7(8 <i>H</i>)-dicarboxilato 67b	180
4.4.5. Síntese dos derivados álcoois 68a,b	181
4.4.5.1. Síntese da <i>tert</i> -butil-2-(hidroximetil)-5,6-dihidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina-7(8 <i>H</i>)-carboxilato 68a	181
4.4.5.2. Síntese da <i>tert</i> -butil 3-(hidroximetil)-5,6-dihidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazine-7(8 <i>H</i>)-carboxilato 68b	182
4.4.6. Síntese dos derivados aldeídos protegidos	183
4.4.6.1. Síntese da <i>tert</i> -butil 2-formil-5,6-dihidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina-7(8 <i>H</i>)-carboxilato 69a	183
4.4.6.2. Síntese da <i>tert</i> -butil 3-formil-5,6-dihidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina-7(8 <i>H</i>)-carboxilato 69b	184
4.4.7. Remoção do grupamento Boc	185
4.4.7.1. Síntese do cloreto de 7-[2-formil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina] 70a 185	
4.4.7.2. Síntese do cloreto de 7-[3-formil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina] 70b 186	
4.4.8. <i>N</i>-benzoilação dos derivados 5,6,7,8-imidazo[1,2-<i>a</i>]pirazina	187
4.4.8.1. Síntese de 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina-2-carbaldeído 71a	187
4.4.8.2. Síntese do 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina-3-carbaldeído 71b	188
4.4.8.3. Síntese do 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazine-2-carbaldeído 71c	189
4.4.8.4. Síntese do 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazine-2-carbaldeído 71d	190
4.4.8.5. Síntese de 7-(4-metoxibenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazina-2-carbaldeído 71e	191
4.4.8.6. Síntese do 7-(4-metoxibenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazine-3-carbaldeído 71f	192

4.4.9. Síntese das tiossemicarbazidas	193
4.4.9.1. Síntese da <i>N</i> -fenilhidrazinacarbotiamida 74b	193
4.4.9.2. Síntese da <i>N</i> -(4-clorofenil)hidrazinacarbotiamida 74c	194
4.4.9.3. Síntese da <i>N</i> -(4-fluorofenil)hidrazinacarbotiamida 74d	195
4.4.9.4. Síntese da <i>N</i> -(4-metóxfenil)hidrazinacarbotiamida 74e	196
4.4.9.5. Síntese da <i>N</i> -(4-nitrofenil)hidrazinacarbotiamida 74f	197
4.4.10. Síntese dos derivados tiossemicarbazona 75a-x	198
4.4.10.1. Síntese da (<i>E</i>)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazin-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida 75a	198
4.4.10.2. Síntese da (<i>E</i>)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazin-2-il)metileno)- <i>N</i> -fenilhidrazinacarbotioamida 75b	199
4.4.10.3. (<i>E</i>)- <i>N</i> -(4-clorofenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazin-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida 75c	200
4.4.10.4. (<i>E</i>)- <i>N</i> -(4-fluorofenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazin-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida 75d	201
4.4.10.5. (<i>E</i>)- <i>N</i> -(4-metoxifenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazin-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida 75e	202
4.4.10.6. (<i>E</i>)- <i>N</i> -(4-nitrofenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazin-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida 75f	203
4.4.10.7. Síntese da (<i>E</i>)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazin-2-il)metileno)hidrazinocarbotioamida 75g	204
4.4.10.8. Síntese da (<i>E</i>)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazin-2-il)metileno)- <i>N</i> -fenilhidrazinacarbotioamida 75h	205
4.4.10.9. Síntese do (<i>E</i>)- <i>N</i> -(4-clorofenil)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazin-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida 75i	206
4.4.10.10. (<i>E</i>)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazin-2-il)metileno)- <i>N</i> -(4-fluorofenil)hidrazinacarbotioamida 75j	207
4.4.10.11. Síntese da (<i>E</i>)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2- <i>a</i>]pirazin-2-il)metileno)- <i>N</i> -(4-metoxifenil)hidrazinacarbotioamida 75k	208

4.4.10.12. Síntese da (E)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)-N-(4-nitroifenil)hidrazinacarbotioamida 75l	209
4.4.10.13. Síntese da (E)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)hidrazinacarbotioamida 75m	210
4.4.10.14. Síntese da (E)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)-N-fenilhidrazinacarbotioamida 75n	211
4.4.10.15. (E)-N-(4-clorofenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pyrazin-3-il)metileno)hidrazinacarbotioamida 75o	212
4.4.10.16. (E)-N-(4-fluorofenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pyrazin-3-il)metileno)hidrazinacarbotioamida 75p	213
4.4.10.17. (E)-N-(4-metóxifenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pyrazin-3-il)metileno)hidrazinacarbotioamida 75q	214
4.4.10.18. (E)-N-(4-nitrofenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pyrazin-3-il)metileno)hidrazinacarbotioamida 75r	215
4.4.10.19. Síntese da (E)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)hidrazinocarbotioamida 75s	216
4.4.10.20. Síntese da (E)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)-N-fenilhidrazinacarbotioamida 75t	217
4.4.10.21. Síntese do (E)-N-(4-clorofenil)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)hidrazinacarbotioamida 75u	218
4.4.10.22. (E)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)-N-(4-fluorofenil)hidrazinacarbotioamida 75v	219
4.4.10.23. Síntese da (E)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)-N-(4-metoxifenil)hidrazinacarbotioamida 75w	220
4.4.10.24. Síntese da (E)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)-N-(4-nitroifenil)hidrazinacarbotioamida 75x	221
4.4.11. Síntese dos derivados tiazolidinona	222
4.4.11.1. Síntese da (Z)-2-((Z)-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-yl)metileno)hidrazona)tiazolidin-4-ona 77a	222

4.4.11.2. Síntese da (Z)-3-(4-metoxifenil)-2-((Z)-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)hidrazono)tiazolidin-4-ona 77b	223
4.4.12. Síntese dos derivados tiazolidina-2,4-diona 78a-r	224
4.4.12.1. (Z)-5-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78a	224
4.4.12.2. Síntese da (Z)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78b	225
4.4.12.3. Síntese da (Z)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78c	226
4.4.12.4. Síntese da (Z)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78d	227
4.4.12.5. Síntese da (Z)-5-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78e	228
4.4.12.6. Síntese da (Z)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78f	229
4.4.12.7. Síntese da (Z)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78g	230
4.4.12.8. Síntese da (Z)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78h	231
4.4.12.9. (Z)-5-((7-(4-metoxibenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78i	232
4.4.12.10. (Z)-5-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78j	233
4.4.12.11. Síntese da (Z)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78k	234
4.4.12.12. Síntese da (Z)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78l	235
4.4.12.13. Síntese da (Z)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78m	236

4.4.12.14. Síntese da (Z)-5-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78n	237
4.4.12.15. Síntese da (Z)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78o	238
4.4.12.16. Síntese da (Z)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78p	239
4.4.12.17. Síntese da (Z)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78q	240
4.4.12.18. (Z)-5-((7-(4-metoxibenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78r	241
5. CAPÍTULO 3 – ATIVIDADE BIOLÓGICA	242
5.1. OBJETIVOS	242
5.1.1. Objetivo Geral.....	242
5.1.2. Objetivos Específicos	242
5.2. METODOLOGIA.....	243
5.2.1. Atividade anti-Leishmania <i>in vitro</i> contra as espécies <i>L. amazonensis</i> e <i>L. infantum</i>	243
5.2.1.1. Cultura de promastigotas de <i>L. amazonensis</i> e <i>L. infantum</i>	243
5.2.1.2. Atividade anti <i>Leishmania</i> contra as formas evolutivas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> e <i>L. infantum</i>	243
5.2.1.3. Atividade anti <i>Leishmania</i> contra as formas evolutivas amastigotas de <i>L. amazonensis</i> e <i>L. infantum</i>	243
5.2.2. Atividade anti-Leishmania <i>in vitro</i> contra a espécie <i>L. major</i>	244
5.2.2.1. Cultura de promastigotas de <i>L. major</i>	244
5.2.2.2. Atividade anti <i>Leishmania in vitro</i> contra a forma evolutiva promastigota de <i>L. major</i>	244
5.2.2.3. Atividade anti <i>Leishmania in vitro</i> contra o estágio amastigota de <i>L. major</i>	245
5.2.3. Atividade antichagásica <i>in vitro</i>	245

5.2.3.1. Cultura de <i>Trypanossoma cruzi</i> - forma epimastigota	245
5.2.3.2. Atividade antichagásica contra a forma evolutiva epimastigota	245
5.2.3.3. Cultura de <i>Trypanossoma cruzi</i> - forma tripomastigota.....	246
5.2.3.4. Atividade antichagásica contra a forma evolutiva tripomastigota	246
5.2.3.5. Cultura de <i>T. cruzi</i> para o teste tripanocida contra a forma amastigota	246
5.2.3.6. Atividade antichagásica contra a forma evolutiva amastigota	247
5.2.4. Avaliação da atividade citotóxica em macrófagos	247
5.2.5. Avaliação da atividade citotóxica em células HeLa	248
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	249
5.3.1. Atividade anti-Leishmania	249
5.3.1.1. Série isoxazolina aza-bicíclica (Séries 56a-g e 57a-u)	249
5.3.1.2. Série 5,6,7,8-tratrahidroimidazo[1,2-a]pirazina (Moléculas 75a-x , 77a,b e 78a-r)	253
5.3.2. Atividade antichagásica	257
5.3.2.1. Série isoxazolina aza-bicíclica (Séries 56 e 57)	257
5.3.2.2. Série 5,6,7,8-tratrahidroimidazo[1,2-a]pirazina (Séries 75a-x , 77a,b e 78a-r)	259
5.3.3. Determinação da citotoxicidade	263
6. CONCLUSÃO	268
1- INTRODUCTION	271
2- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	273
2.1- MALADIE DE CHAGAS	273
2.1.1- Épidémiologie.....	273
2.1.2- Le parasite : Trypanosoma cruzi	274
2.1.3- Phases de la maladie de Chagas	276
2.1.4- Traitement de la maladie de Chagas	276
2.2- LEISHMANIOSE.....	277

2.2.1-	La maladie et l'épidémiologie.....	277
2.2.2-	Leishmaniose cutanée (LC) e Leishmaniose muco-cutanée (LMC).....	278
2.2.3-	Leishmaniose Viscérale (LV) ou Kalazar.....	279
2.2.4-	Le parasite et son cycle de vie.....	279
2.2.5-	Diagnostic et traitement	280
2.3-	ISOXAZOLINE.....	281
2.4-	THIAZOLIDINE-2,4-DIONE	284
2.5-	IMIDAZO[1,2-a]PYRAZINE	285
2.6-	THIOSEMICARBAZONES ET THIAZOLIDINONES.....	287
3-	CHAPITRE 1 - SERIE AZA-BICYCLIQUE 2-ISOXAZOLINE.....	289
3.1-	LES OBJECTIFS.....	289
3.1.1-	Objectif général	289
3.1.2-	Objectifs spécifiques	289
3.2-	PARTIE 1 METHODOLOGIE	289
3.3-	RESULTATS ET DISCUSSION.....	292
3.3.1-	Synthèse du trimère de 1-pyrroline 43	292
3.3.2-	Synthèse des enamides endocycliques 45a-g	293
3.3.3-	Synthèse du chlorooximidoacétate d'éthyle 47: précurseur du CEFNO 47a	295
3.3.4-	Synthèse racémique de l'ester d'isoxazoline 48a-g	296
3.3.5-	Synthèse des alcools d'isoxazoline 49a-g	299
3.3.6-	Synthèse d'isoxazoline aldéhydes 52a-g	300
3.3.7-	Synthèse de la thiazolidine-2,4-dione 53.....	301
3.3.8-	Synthèse de dérivés de thiazolidine-2,4dione <i>N</i> -acylés 55a-c.	301
3.3.9-	Condensation de l'isoxazoline aldéhyde 52a-g avec les thiazolidines-2,4- dione 53 et 55a-c	302
4-	CHAPITRE 2 - SERIE 5,6,7,8-TETRAHYDROIMIDAZO[1,2-A]PYRAZINE	309

4.1- LES OBJECTIFS	309
4.1.1- Usage général.....	309
4.1.2- Objectifs spécifiques	309
4.2- METHODOLOGIE	310
4.3- RESULTATS ET DISCUSSION.....	312
4.3.1- Obtention du noyau imidazo[1,2-a]pyrazine modulé en ester aux positions C2 et C3.	312
4.3.1.1- Obtention de l'imidazo[1,2-a]pyrazine-2-carboxylate d'éthyle 64a	312
4.3.1.2- Obtention de l'imidazo[1,2-a]pyrazine-3-carboxylate d'éthyle 64b	313
4.3.2- Réduction du noyau d'imidazole de l'imidazo[1,2-a]pyrazine-2-carboxylate d'éthyle 64a et de l'imidazo[1,2-a]pyrazine-3-carboxylate d'éthyle 64b 314	
4.3.3- Obtention des aldéhydes en C2 et C3: Synthèse de 2-formyl-5,6-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazine-7(8 <i>H</i>)-carboxylate de <i>tert</i> -butyle 69a et de 3-formyl-5,6 de <i>tert</i> -butyle-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazine-7(8 <i>H</i>)-carboxylate 69b 315	
4.3.4- Obtention de dérivés de <i>N</i> -benzoyl aldéhyde 71a-f	316
4.3.5- Condensation de <i>N</i> -benzoyl aldéhydes 71a-f avec les thiosemicarbazides 74a-f : Obtention de molécules hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarabazone 75a-x	318
4.3.6- Cyclisation des dérivés de thiosemicarbazone 75a,b : Obtention de dérivés hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone 77a,b 322	
4.3.7- Condensation de Knoevenagel : Synthèse de dérivés de 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidine-2,4-dione 78a-r	323
5- CHAPITRE 3 - ACTIVITE BIOLOGIQUE	327
5.1- LES OBJECTIFS	327
5.1.1- Objectif général	327
5.1.2- Objectifs spécifiques	327

5.2- METHODOLOGIE	328
5.2.1.- Activité anti-Leishmania <i>in vitro</i> contre <i>L. amazonensis</i> et <i>L. infantum</i>	328
5.2.1.1- Culture de la forme promastigote de <i>L. amazonensis</i> et <i>L. infantum</i>	328
5.2.1.2- Activité anti-Leishmania contre la forme évolutive promastigote de <i>L. amazonensis</i> et <i>L. infantum</i>	328
5.2.1.3- Activité anti-Leishmania contre la forme évolutive amastigote de <i>L. amazonensis</i> et <i>L. infantum</i>	328
5.2.2- Activité anti-Leishmania <i>in vitro</i> contre <i>L. major</i>	329
5.2.2.1- Culture de la forme promastigote de <i>L. major</i>	329
5.2.2.2- Activité anti-leishmania <i>in vitro</i> contre la forme évolutive promastigote de <i>L. major</i>	329
5.2.2.3- Activité anti-leishmania <i>in vitro</i> contre le stade amastigote de <i>L. major</i>	329
5.2.3- Activité antichagasique <i>in vitro</i>.	330
5.2.3.1- Culture de <i>Trypanosoma cruzi</i> - forme épimastigote.....	330
5.2.3.2- Activité antichagasique contre la forme évolutive des épimastigotes	330
5.2.3.3- Culture de <i>Trypanosoma cruzi</i> - forme trypomastigote.....	331
5.2.3.4- Activité antichagasique contre la forme évolutive des trypomastigotes.....	331
5.2.3.5- Culture de <i>T. cruzi</i> pour le test trypanocide contre la forme amastigote	331
5.2.3.6- Activité antichagastique contre la forme évolutive amastigote	331
5.2.4- Evaluation de l'activité cytotoxique dans les macrophages	332
5.2.5- Evaluation de l'activité cytotoxique dans les cellules HeLa	332
5.3- RESULTATS ET DISCUSSION.....	334
5.3.1- Activité anti-leishmania	334
5.3.1.1- Série d'isoxazoline aza-bicyclique (séries 56a-g et 57a-u)	334
5.3.1.2- Série 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine (Série 75a-x , 77a,b et 78a-r)	338
5.3.2- Activité antichagasique	342
5.3.2.1- Série d'isoxazoline aza-bicyclique (séries 56a-g et 57a-u)	342

5.3.2.2- Série 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine (séries 75a-x , 77a,b et 78a-r)	345
5.3.3- Détermination de la cytotoxicité	349
6- CONCLUSION	354
REFERÊNCIAS	356

1. INTRODUÇÃO

As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN) são constituídas por um grupo de doenças que possuem maior prevalência em países tropicais ou subtropicais e estão presentes predominantemente na população mais pobre, que não possui saneamento básico adequado e está em contato com vetores. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) atualmente mais de um bilhão de pessoas em todo o mundo estão afetadas por alguma destas doenças, o que leva a um alto custo econômico (WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2018a). A OMS classifica 17 doenças como DTN, sendo estas causadas por parasitas que incluem vírus, bactérias ou eucariotos; neste último grupo fazem parte a Doença de Chagas e a Leishmaniose, ambas causadas por protozoários da família trypanosomatidae.

Em todo o mundo cerca de 8 milhões de pessoas estão infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* (agente causador da Doença de Chagas) e a grande maioria das pessoas infectadas estão concentradas na América Latina, cerca de 10.000 pessoas morrem por ano (WHO, 2016). Atualmente apenas dois fármacos são utilizados para o tratamento desta parasitose, o benznidazol e o nifurtimox. Quando se trata da leishmaniose, doença causada por parasitas do gênero *Leishmania spp*, existem 3 tipos diferentes da enfermidade que podem ser causadas por espécies diferentes do parasita. A epidemiologia desta doença varia conforme o tipo de leishmaniose, assim como o tratamento e a gravidade da infecção, sendo a leishmaniose visceral o tipo mais grave (WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2018b).

A doença de Chagas e a Leishmaniose são doenças graves e que devem possuir tratamento adequado, assim como todas as doenças negligenciadas, porém, a descoberta e o desenvolvimento de novas drogas são extremamente lentos. A indústria farmacêutica não se interessa por este tipo de pesquisa devido ao alto custo e baixo incentivo financeiro (GARCIA-SALCEDO et al., 2016). Além disso, um grande problema quando se trata do tratamento de doenças infecciosas é a resistência do agente causador às drogas utilizadas, bem como o surgimento de efeitos colaterais graves e ineficácia de tratamento em todas as fases da doença. É de extrema importância o desenvolvimento de novas drogas para o tratamento destas enfermidades.

O desenvolvimento de novas drogas biologicamente ativas pode ser realizado através da utilização de vários métodos. A Química Medicinal dispõe de várias metodologias para a criação de novas moléculas biologicamente ativas, dentre elas a Hibridização Molecular. Este método consiste na união de grupos farmacofóricos diferentes, com propriedades farmacológicas distintas ou não, a fim de obter novas moléculas híbridas (VIEGAS-JUNIOR et al., 2007). A otimização da atividade biológica e de outras características farmacológicas podem ser verificadas, incluindo um efeito farmacológico diferente do apresentado originalmente.

Tendo em vista a grande importância relatada na literatura dos núcleos 2-isoxazolininas e 2,4-tiazolidinadionas, como atividade antitumoral (KAMAL et al., 2012; PRAJAPTI et al., 2015; RÊGO et al., 2014), antimicrobiana (MANDAWAD et al., 2014; NIKAM et al., 2015), antichagásica (DE MENEZES et al., 2016), antileishmania (LEITE et al., 2016), antidiabética (MISHRA; SACHAN; CHAWLA, 2015), entre outras; bem como resultados obtidos por nosso grupo de pesquisa e expertise, este trabalho tem como um dos objetivos a síntese de novas moléculas, utilizando hibridização molecular dos núcleos relatados (Figura 01), com atividade antichagásica e antileishmania.

A segunda parte deste grande trabalho é a síntese de novas moléculas híbridas com os núcleos imidazo[1,2-a]pirazina, tiossemicarbazona, tiazolidina-2,4-diona e tiazolidinona. Estes núcleos apresentam na literatura atividade antiparasitária, como antileishmania (LEITE et al., 2016; MARCHAND et al., 2015) e antichagásica (MOREIRA et al., 2014; MORENO-RODRÍGUEZ et al., 2014), entre outras (MARHADOUR et al., 2012). Diante disto, os testes biológicos das novas moléculas híbridas (Figura 01) também serão realizados contra os parasitas *T. cruzi* e *Leishmania spp.*

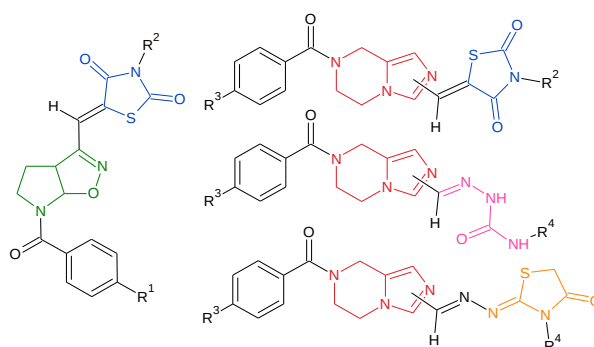


Figura 01. Moléculas híbridas contendo os núcleos 2-isoxazolinina aza-bicíclica (verde), tiazolidina-2,4-diona (azul), imidazo[1,2-a]pirazina (vermelho), tiossemicarbazina (rosa) e tiazolidinona (laranja).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. DOENÇA DE CHAGAS

2.1.1. Histórico da doença

A tripanossomíase americana, mais conhecida como doença de Chagas, foi descoberta em 1907 pelo pesquisador brasileiro Carlos Chagas quando viajou para o estado de Minas Gerais com o objetivo de combater a malária entre alguns trabalhadores. Ele descobriu o parasita responsável pela doença, o *Trypanosoma cruzi*, em insetos que se proliferavam nas casas de pau-a-pique e se alimentavam do sangue de seus habitantes. O nome do protozoário foi dado por Carlos Chagas em homenagem a Oswaldo Cruz e, em 1909, o homenageado informou oficialmente a descoberta da doença à Academia Nacional de Medicina. (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, [s.d.]).

2.1.2. Epidemiologia

A Doença de Chagas era uma doença rural, presente inicialmente em animais silvestres, mas, com mudanças socioeconômicas, o êxodo rural, o desmatamento e a urbanização, o cenário foi sendo modificado e ao passar dos anos essa doença adquiriu um perfil epidemiológico mais urbano/peri-urbano e incide sobretudo na população mais pobre de determinada região.

O *T. cruzi*, segundo a OMS, infecta atualmente cerca de 8 milhões de pessoas em todo o mundo, sendo a América Latina a região mais afetada. A mortalidade da Doença de Chagas chega a mais de 10 mil pessoas por ano. Nessa infecção não há predominância de gênero, mas, as crianças são as mais atingidas quando se trata da transmissão vetorial domiciliar (WHO, 2018c).

Nos últimos anos tem sido tratada com grande seriedade a presença da Doença de Chagas fora da América Latina, de países endêmicos. Isto se dá devido à mobilidade populacional e principalmente à migração. No ano de 1970, por exemplo, os Estados Unidos receberam uma grande quantidade de imigrantes latino-americanos. Segundo o Centro de Controle de Doenças e Prevenção (Centers for Disease Control and Prevention – CDC) cerca de 300 mil pessoas estão infectadas

pelo *T. cruzi* e a grande maioria dos infectados está presente na sua população imigrante. Neste país casos raros de infecção por este parasita acontecem devido à transmissão pelo inseto vetor (CANTEY et al., 2012; SCHMUNIS, 2007). Normalmente essa transmissão acontece em casos de transfusão sanguínea e de mãe para filho, na grande maioria dos países não-endêmicos (Canadá e alguns países da Europa), não havendo transmissão pelo inseto vetor (Figura 02).

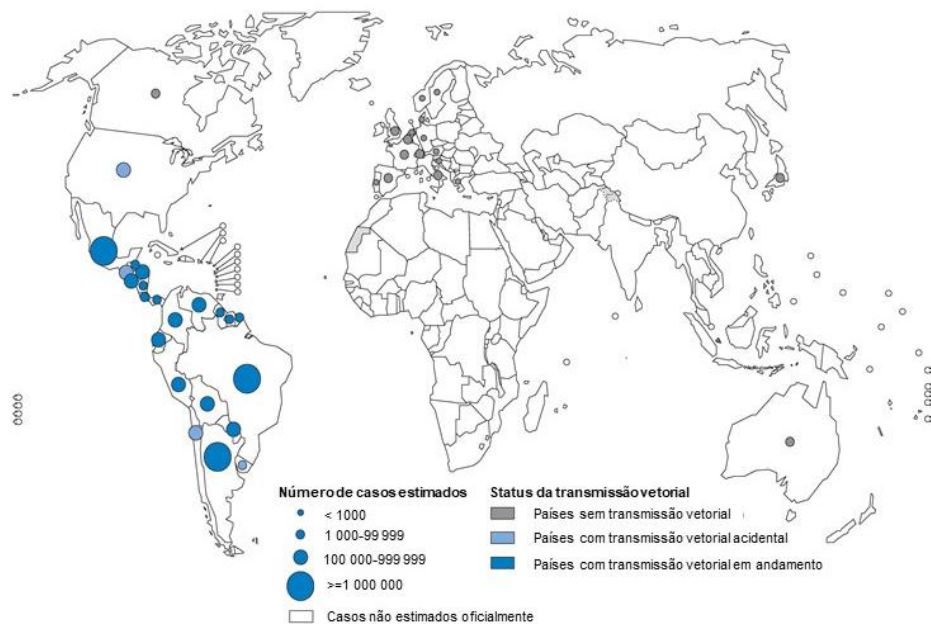


Figura 02. Distribuição dos casos de infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, com base em estimativas oficiais e status de transmissão vetorial, no mundo, 2006-2009. Fonte: WHO – World Health Organization. (Adaptado de: <http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/GI>)

2.1.3. O parasita: *Trypanosoma cruzi*

O agente causador da Doença de Chagas é um parasita flagelado da família Trypanosomatidae, o *T. cruzi* (Figura 03). Ele possui dois hospedeiros, um invertebrado e um vertebrado, o homem. A principal espécie de hospedeiro invertebrado é o *Triatoma infestans* (Figura 03). Esse inseto hematófago também é conhecido como Barbeiro, pois tem preferência em se alimentar na região facial dos seres humanos. Ele possui hábitos domésticos quase estritos e está presente em vários países da América do Sul.

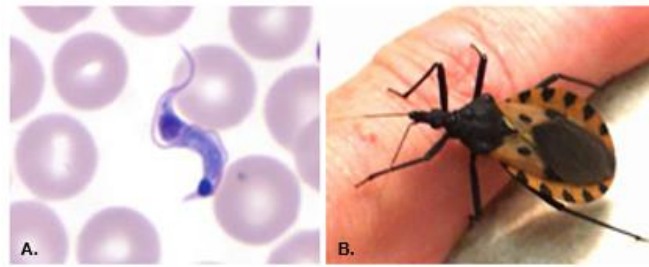


Figura 03. A. *Trypanosoma cruzi* (forma tripomastigota). B. *Triatoma infestans* (Barbeiro). (Adaptado de: <http://www.cdc.gov/parasites/chagas/index.html>)

O *T. cruzi* é um parasito do tipo heteroxênico, precisa de dois hospedeiros para completar seu ciclo evolutivo. Ocorre diferenciação celular durante as fases do ciclo evolutivo, passando por 3 formas diferentes do parasito: tripomastigota, epimastigota e amastigota. A forma infectante para o hospedeiro invertebrado é a tripomastigota e para os seres humanos a tripomastigota metacíclica. A primeira é oriunda do homem e a segunda do inseto. A Figura 04 demonstra o ciclo evolutivo do *T. cruzi* e todas as suas formas evolutivas.

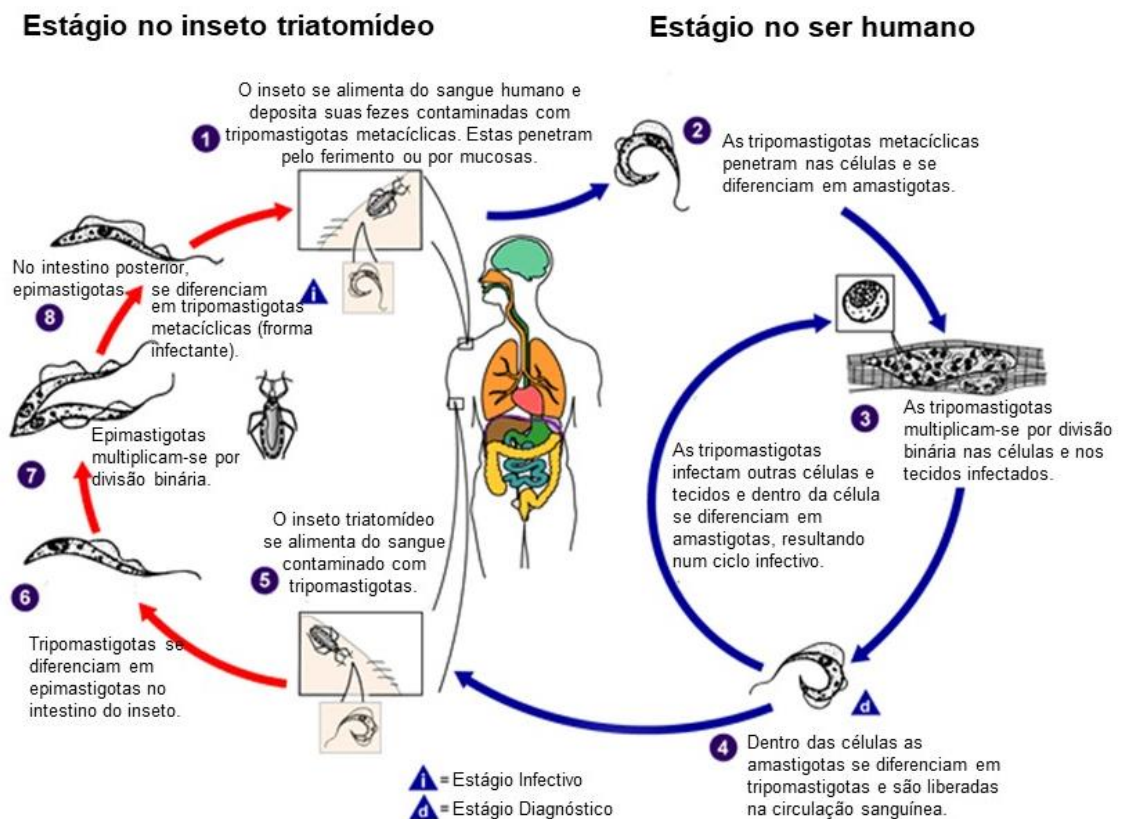


Figura 04. Ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi*. (Adaptado de: <http://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>)

2.1.4. Fases, mecanismos de transmissão e prevenção

A doença passa por três fases distintas: aguda, indeterminada e crônica. A fase aguda que é a fase inicial da doença, é caracterizada pela presença de poucos sintomas como febre, hepato-esplenomegalia e, dependendo de onde se localiza a porta de entrada do parasita, podem aparecer o chagoma, edema causado pela inflamação oriunda da picada do inseto transmissor, ou o sinal de Romaña, edema ocular bipalpebral unilateral causado quando a porta de entrada dos parasitas é a conjuntiva ocular. A fase indeterminada é assintomática e depende de vários fatores, como a virulência do parasita e susceptibilidade do indivíduo afetado (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, [s.d.]; RASSI; RASSI; MARCONDES DE REZENDE, 2012). A fase crônica é caracterizada por complexo comprometimento cardíaco, aumento do volume do coração e de órgãos do aparelho digestivo. Nesse estágio, o paciente precisa de bastante atenção médica e também é nesta fase que os atuais fármacos antichagásicos, benznidazol e nifurtimox são menos ativos (WHO, 2018d).

A principal forma de transmissão da Doença de Chagas é a transmissão vetorial, através das fezes contaminadas do inseto transmissor, o *T. infestans*, quando entram em contato com a pele lesada ou mucosas. Também são consideradas formas de transmissão não menos relevantes, a transfusão sanguínea, a transmissão vertical ou congênita, a transmissão oral (através de alimentos contaminados), pelo transplante de órgãos e acidentes laboratoriais (WHO, 2018e).

O combate ao mosquito vetor é a principal forma de prevenção da Doença de Chagas. O uso de inseticidas, telas protetoras e o melhoramento das condições de habitação são exemplos de medidas protetivas. Aumento no controle biológico de triagem sanguínea, na doação de órgãos, nas técnicas de biossegurança laboratoriais são outros exemplos de prevenção da doença.

2.1.5. Tratamento para a Doença de Chagas

Apenas dois fármacos antichagásicos são efetivamente utilizados na medicina para o tratamento desta doença, o benznidazol **1** e o nifurtimox **2** (Figura 05). Ambas são substâncias nitro-heterocíclicas, sendo a primeira um derivado nitro-imidazol e a segunda um derivado nitro-furano. Eles apresentam significativa atividade antichagásica na fase aguda da doença com uma cura parasitológica de 60-80%

(PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018; VIOTTI et al., 2014). Entretanto, a alta toxicidade e a grande quantidade de efeitos colaterais presentes quando da utilização desses medicamentos, bem como a presença de parasitas resistentes, trazem à tona a grande necessidade do desenvolvimento de novas substâncias antichagásicas (TESTON et al., 2013).

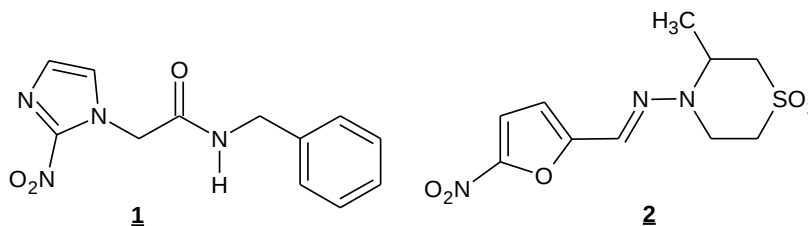


Figura 05. Benznidazol **1** e Nifurtimox **2**, fármacos antichagásicos.

A ação desses nitroderivados é devido à formação de compostos tóxicos no interior das células pela redução enzimática do grupo nitro, que resulta em radicais livres, aumentando o estresse oxidativo da célula e levando eventualmente a morte do parasita (BERMUDEZ et al., 2016). As nitroredutases são enzimas que estão envolvidas neste processo e podem ser de dois tipos, sendo diferenciadas pela sensibilidade ao oxigênio. A. Tipo I é insensível ao oxigênio e proporcionam reduções envolvendo dois elétrons; a Tipo II é sensível ao oxigênio e as reduções nas quais ela participa envolve apenas um elétron (SCARIM et al., 2018). A presença de cepas de *T. cruzi* resistentes ao benznidazol e nifurtimox levam à necessidade da busca de novas substâncias antichagásicas com outro mecanismo de ação, como por exemplo os inibidores da síntese do ergosterol, inibidores da topoisomerase tipo 1, inibidores da cruzaina, inibidores da anidrase carbônica, entre outros (BERMUDEZ et al., 2016; DE MENEZES et al., 2016; PAN et al., 2013; SCARIM et al., 2018).

2.2. LEISHMANIOSE

2.2.1. A doença e epidemiologia

A leishmaniose é uma doença parasitária considerada pela OMS como uma Doença Tropical Negligenciada (DTN), fazendo, assim, parte de um grupo de 17 doenças caracterizadas desta forma. O agente etiológico desta doença é o parasita flagelado do gênero *Leishmania* que, possui mais de 20 espécies infectantes para o

ser humano e é transmitida pela picada do mosquito flebótomo . Essa doença pode se apresentar de três maneiras diferentes: leishmaniose cutânea (LC), cutâneo mucocutânea ou tegumentar (LMC ou LT) e leishmaniose visceral ou calazar (LV) (WHO, 2018f).

Ainda de acordo com a OMS, 97 países e territórios em todo o mundo são considerados endêmicos para essa doença. No ano de 2018, 50 países foram considerados endêmicos para a LV e 52 países para a LC. Anualmente o número de novos casos varia de 0,7 à 1 milhão e os dados sobre a mortalidade varia de 20 à 30 mil mortes por ano (WHO, 2018f). As condições socioeconômicas, a desnutrição, a mobilidade populacional, mudanças ambientais e do clima são fatores de risco que influenciam diretamente a situação epidemiológica mundial da doença.

2.2.2. Leishmaniose cutânea (LC)

Considerado o tipo mais comum da doença, a Leishmaniose Cutânea pode ser causada por várias espécies de *Leishmania*. No novo mundo as espécies que causam LC mais comumente, por serem endêmicas na região, são *Leishmania amazonensis*, *Leishmania mexicana*, *Leishmania chagasi*, *Leishmania naiffi*, *Leishmania braziliensis* e *Leishmania guyanensis*. Quando se trata das espécies causadoras de LC no velho mundo as mais comuns são *Leishmania major*, *Leishmania tropica* e *Leishmania infantum* (DE VRIES; REEDIJK; SCHALLIG, 2015). Essa doença é antroponótica ou zoonótica, ou seja, não atinge apenas o ser humano, também outros animais; sendo os animais domésticos aqueles que, quando infectados, mais oferecem risco a disseminação da doença (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018).

A LC é uma doença transmitida principalmente pela picada do mosquito flebótomo, local onde a lesão se inicia. A LC pode variar conforme a espécie do parasita, fatores genéticos do hospedeiro e extensão da resposta imune. Inicialmente a lesão se apresenta como uma pápula indolor, que progride para uma lesão ulcerativa (Figura 06). Elas podem ser disseminadas pelo corpo e apresentar também gravidade variável (PACE, 2014). Para a cura são necessários de meses a anos de tratamento, podendo deixar cicatrizes e alterações na pigmentação da pele (HANDLER et al., 2015).



Figura 06. Lesão ulcerativa de Leishmaniose cutânea. Fonte: (HANDLER et al., 2015)

A OMS estima que 95% dos casos de LC estão presentes nas Américas, na bacia do Mediterrâneo, no Oriente Médio e na Ásia Central. Esses dados podem ser confirmados pela situação endêmica da doença no ano de 2016, presente na Figura 07. Cerca de 600 mil a um milhão de novos casos da doença ocorrem por ano. A maioria dos casos de LC ocorrem no Afeganistão, Brasil, Irã, Paquistão, Perú, Arábia Saudita e Síria (WHO, 2018f).

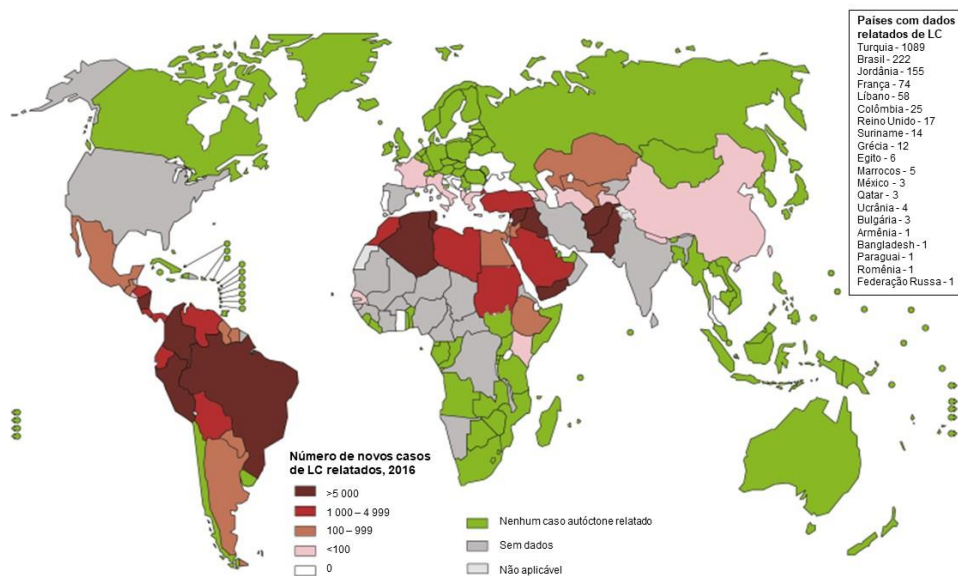


Figura 07. Situação endêmica mundial da Leishmaniose cutânea em 2016. Adaptado de: OMS

2.2.3. Leishmaniose Muco-cutânea ou Tegumentar (LMC ou LT)

A LMC é causada principalmente pela *Leishmania braziliensis*, mas também pelas espécies *Leishmania panamensis*, *Leishmania guyanensis* e *Leishmania amazonensis*, entre outras. Nesse tipo de leishmaniose as regiões mais afetadas são nariz, boca e garganta. Os sintomas são inicialmente inespecíficos, como uma resposta inflamatória local, ocasionando dificuldades para um diagnóstico precoce mas, com o avanço da doença, a úlcera se forma lentamente. A Figura 08 mostra um

paciente com LCM apresentando uma úlcera necrótica situada na narina direita e lábio superior causada pela LMC. Segundo a OMS, 90% dos casos de LMC estão presentes na Bolívia, Brasil, Etiópia e Perú (CROVETTO-MARTÍNEZ et al., 2015; GOTO; LAULETTA LINDOSO, 2012; WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2019a).



Figura 08. Paciente com lesão ulcerativa necrótica, causada pela leishmaniose muco-cutânea, situada na narina direita e lábio superior. Fonte: (CROVETTO-MARTÍNEZ et al., 2015)

2.2.4. Leishmaniose Visceral (LV) ou Calazar

A Leishmaniose Visceral (LV) ou calazar é o tipo mais grave de leishmaniose, podendo causar 95% de morte em pacientes não tratados. Ela afeta órgãos internos como fígado, baço e medula-óssea e, pode ser desenvolvida meses ou anos após a picada do mosquito vetor (PREVENTION, 2018). Os sintomas mais comuns dessa doença são anemia, caquexia progressiva, febre, hepatomegalia (aumento do fígado), esplenomegalia (aumento do baço), diarreia, dentre outros e, também afeta o sistema imune do hospedeiro definitivo. A Figura 09 retrata um paciente com LV que apresenta grande aumento do baço. As espécies causadoras dessa doença são a *Leishmania donovani* e *Leishmania infantum* (*Leishmania chagasi* na América do Sul) (PACE, 2014; VAN GRIENSVEN; DIRO, 2012).



Figura 09. Paciente com leishmaniose visceral que apresenta grande esplenomegalia. Fonte: (VAN GRIENSVEN; DIRO, 2012)

A OMS relata que em 2015, 90% dos novos casos notificados da LV ocorreram no Brasil, Etiópia, Índia, Quênia, Somália, Sudão do Sul e Sudão (Figura 10). Cerca de 50 mil à 90 mil novos casos da doença são reportados por ano (WHO, 2019b). Os surtos da doença podem ocorrer por motivos migratórios e perturbação do habitat do mosquito vetor (desmatamento, por exemplo). Ainda há um grande problema quando se trata de indivíduos portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), pois em áreas de grande incidência dessa doença, foi verificada uma contribuição correlacionada com o aparecimento de novos casos de LV (VAN GRIENSVEN; DIRO, 2012).

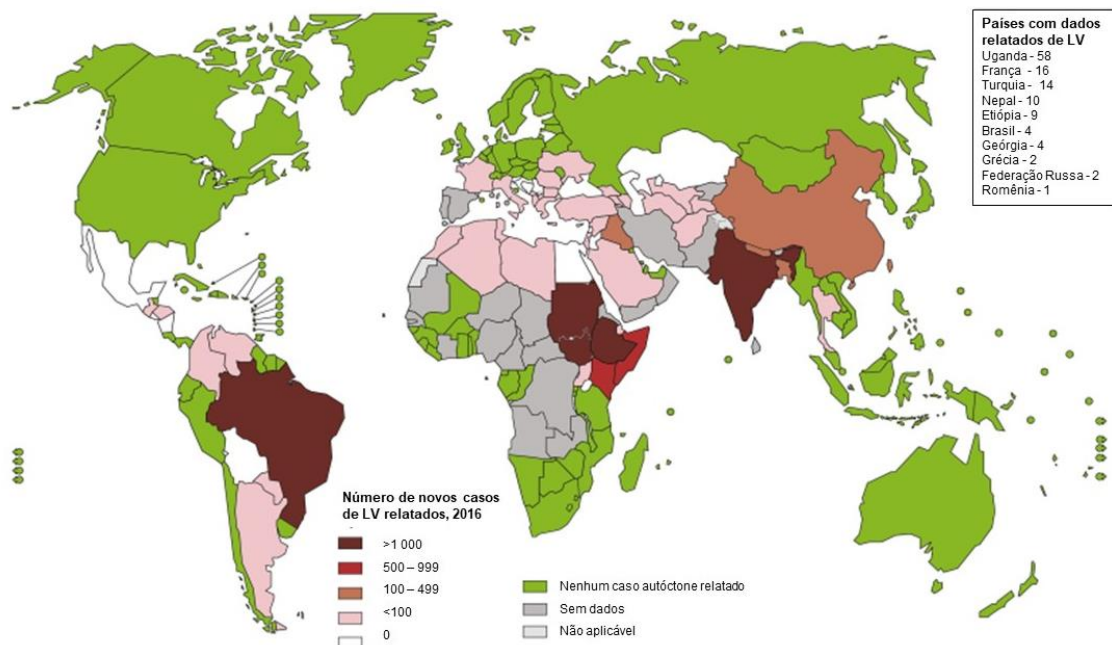


Figura 10. Situação endêmica mundial da Leishmaniose visceral em 2016. Adaptado de: OMS

2.2.5. O parasita e seu ciclo de vida

O parasita *Leishmania spp* pertence à família Trypanosomatidae, mesma família do *Trypanosoma cruzi* e portanto, possui um ciclo de vida semelhante. Esse parasita possui apenas duas formas evolutivas, promastigota e amastigota. A primeira é a forma infectante (flagelada) e a segunda é a forma intracelular (aflagelada), respectivamente. O ciclo de vida do *Leishmania spp*, apresentado na Figura 11, possui duas etapas, uma no hospedeiro vertebrado (ser humano ou animais) e outra no hospedeiro intermediário. A transmissão da doença ocorre principalmente pela picada do mosquito flebótomo, que injeta o parasita na forma promastigota. O parasita é

então fagocitado por células do sistema imunológico do ser humano e dentro da célula se diferencia na forma amastigota. Dentro das células os amastigotas se multiplicam e invadem outras células (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018; KAPIL; SINGH; SILAKARI, 2018; VAN GRIENSVEN; DIRO, 2012).

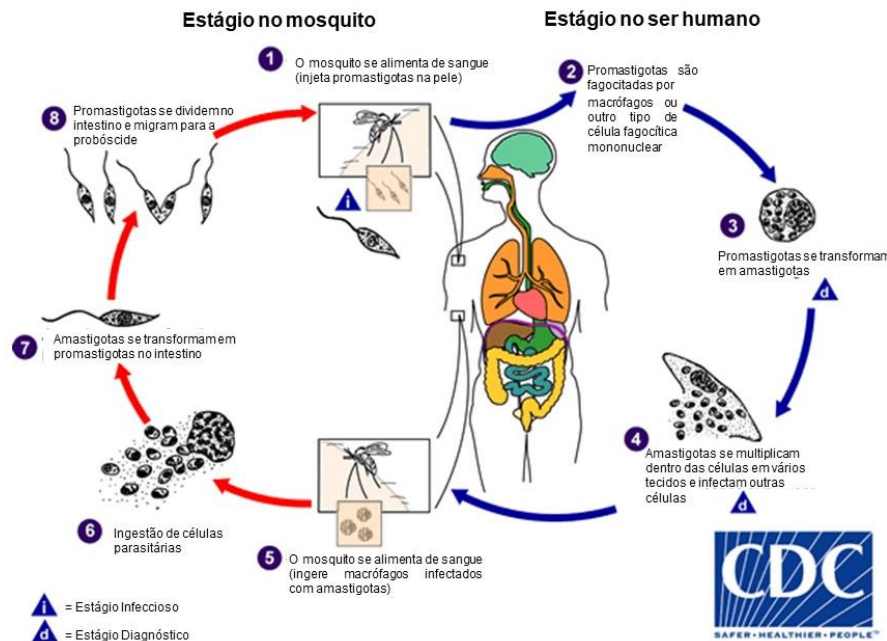


Figura 11. Ciclo de vida do parasita *Leishmania* spp. Adaptado de: Central Disease Control (CDC).

2.2.6. Diagnóstico e tratamento

O diagnóstico da leishmaniose pode ser feito por diagnóstico clínico, parasitológico e imunológico. É de extrema importância a visualização do parasita (amastigota) por microscopia, através da análise de aspirados teciduais (Figura 12). Outros testes também podem ser feitos para diagnóstico desse tipo de leishmaniose, como testes sorológicos, como o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) e testes moleculares, como o teste da Proteína C Reativa (PCR) (GEORGIADOU; MAKARITSIS; DALEKOS, 2015; VAN GRIENSVEN; DIRO, 2012).

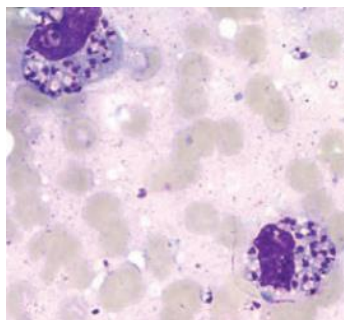


Figura 12. Imagem de microscopia óptica da preparação de toque de uma sessão cutânea onde é possível visualizar a presença de parasitas (forma amastigota) dentro de macrófagos. Adaptado de: (MCGWIRE; SATOSKAR, 2014).

Atualmente várias drogas são utilizadas para o tratamento da leishmaniose. O tipo de droga, a dosagem e uma possível combinação de agentes leishmanicidas podem variar de acordo com o tipo de infecção e a gravidade. Os principais medicamentos utilizados são os complexos de antimônio, como o Glucantime®, a anfotericina B, a miltefosina, a paramomicina, entre outros (Figura 13) (JAIN; JAIN, 2013; MCGWIRE; SATOSKAR, 2014).

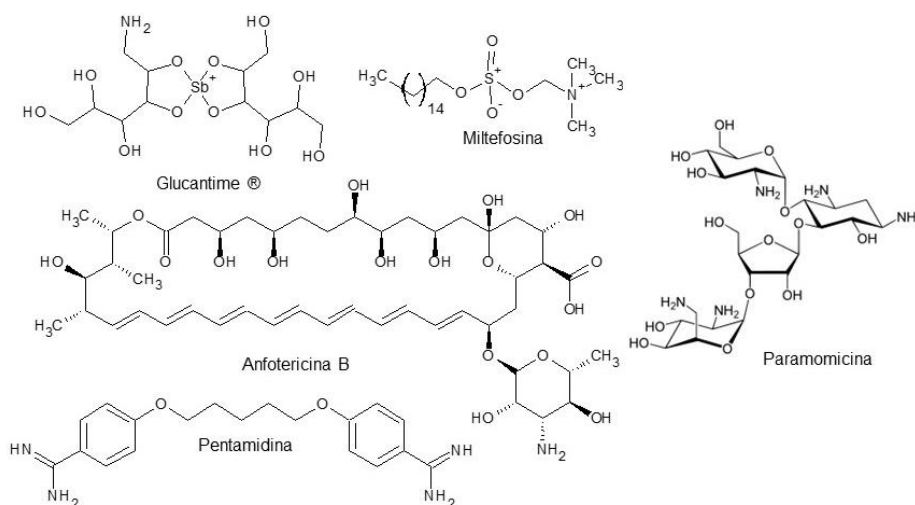


Figura 13. Estruturas químicas de substâncias utilizadas no tratamento da leishmaniose.

Entretanto, o atual tratamento da leishmaniose possui algumas limitações como, por exemplo a via de administração. Todos os medicamentos utilizados são de uso parenteral, exceto a miltefosina, dificultado a adesão ao tratamento correto. Além disso, efeitos tóxicos, longa duração de tratamento, custo e o surgimento de parasitas resistentes levam à necessidade do surgimento de novas substâncias (JAIN; JAIN, 2013; NO, 2016). Uma alternativa para obter fármacos menos tóxicos, por exemplo, é

o direcionamento de síntese de novos fármacos contra alvos específicos no parasita, como a enzima pteridina redutase, entre outros.

2.3. ISOXAZOLINA

São chamados compostos heterocíclicos aqueles que possuem em sua cadeia cíclica ao menos um átomo diferente do carbono. As isoxazolininas são representantes destes tipos de compostos, pois possuem em sua constituição 5 átomos, sendo eles carbonos, oxigênio e nitrogênio. Este núcleo pertence ao grupo dos isoxazóis que, pode possuir uma ou mais insaturações e a posição delas identifica que tipo de heterociclo é apresentado. Dentre eles podemos destacar a 2-isoxazolina (Figura 14).

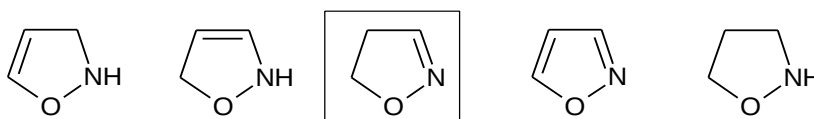


Figura 14. Tipos de isoxazolininas: 4-isoxazolinina, 3-isoxazolinina, 2-isoxazolinina (em destaque), isoxazol e isoxazolidina, respectivamente.

2.3.1. A importância das 2-isoxazolininas

Na literatura são encontrados inúmeros relatos de moléculas contendo o núcleo 2-isoxazolinina biologicamente ativas. Podem ser citadas diversas atividades como anticâncer (KHAZIR et al., 2013; SHI et al., 2012), antibacteriana (KIRAN KUMAR; UMA RAVI SANKAR; KIM, 2014; MANDAWAD et al., 2014), antimalária (KALARIA; SATASIA; RAVAL, 2014), Antagonista do ácido glutâmico (PINTO et al., 2011), imunopotenciadora (ISMAIL et al., 2015), inseticida (WANG et al., 2012), antirretroviral (ZHANG et al., 2012), anti-inflamatória (GHIDINI et al., 2015), antinociceptiva (REIS et al., 2011), anti-helmíntica (MONDAL et al., 2012), antichagásica (DE MENEZES et al., 2016), entre outras (DALLANOCE et al., 2012). A Figura 15 exemplifica algumas moléculas biologicamente ativas que possuem o núcleo 2-isoxazolinina.

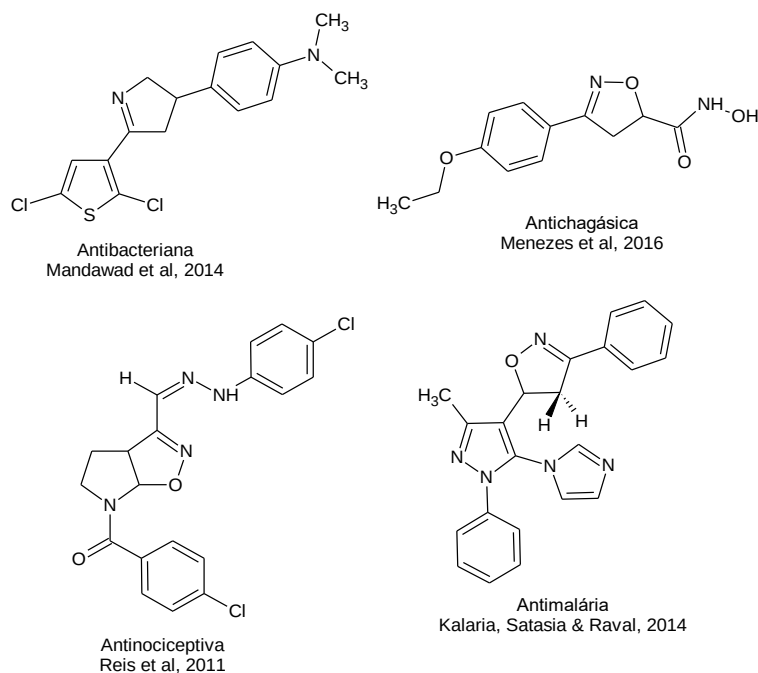
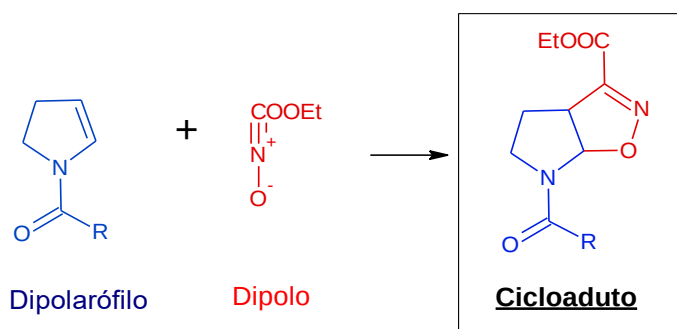


Figura 15. Exemplo de moléculas biologicamente ativas que contém o grupo 2-isoxazolina.

2.3.2. Síntese do núcleo 2-isoxazolina

O núcleo 2-isoxazolina pode ser obtido por vários métodos. Um dos mais utilizados é a reação de cicloadição 1,3-dipolar (BISWAS; KUMAR; DAS SARMA, 2013; KONDACS et al., 2015), também chamada de cicloadição [3+2]. Esse modelo de síntese consiste na formação de um heterociclo, chamado de cicloaduto, através da reação entre um dipolo e um dipolarófilo (Esquema 01).

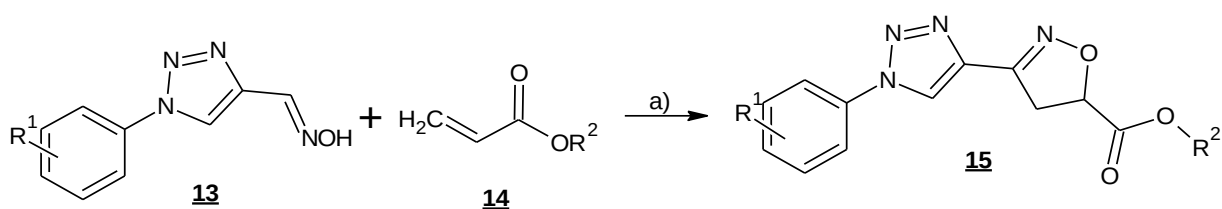


Esquema 01. Exemplo de reação de cicloadição 1,3-dipolar (DE ALMEIDA et al., 2009).

O mecanismo de reação da cicloadição 1,3-dipolar pode ser explicado através da teoria dos Orbitais Moleculares de Fronteira (FOM). A explicação se baseia na interação dos orbitais HOMO (Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia) e LUMO (Orbital Molecular Não-Ocupado de Menor Energia) do dipolo e do dipolarófilo. O fator determinante é o menor gasto de energia para a formação do cicloaduto. Essa teoria

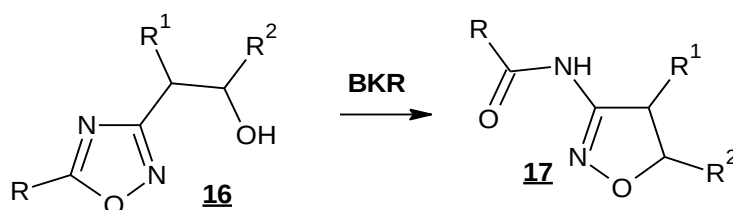
também justifica a regioespecificidade e estereoespecificidade da cicloadição 1,3-dipolar (ESS; HOUK, 2008; HOUK, 1975; KAMIMURA; HORI, 1994; ZHAO et al., 2004).

Em 2015, Ismail e colaboradores sintetizaram uma molécula bis-heterocíclica contendo o núcleo 2-isoxazolina. O núcleo foi formado pela reação de cicloadição 1,3-dipolar entre oximas triazólicas fenil substituídas **13** e acrilatos substituídos **14**. A molécula final **15** foi obtida com ótimos rendimentos e foram realizados estudos imunológicos *in vitro* (proliferação de linfócitos) e *in vivo* (produção de citocinas, anticorpos, subtipos de células T, etc) para avaliar sua atividade imunomoduladora. Resultados bastante promissores foram obtidos.



Esquema 02. Reação de obtenção do núcleo 2-isoxazolina realizada por Ismail et al (2015). Dados: a) NCS, DMF, t.a., 1h.

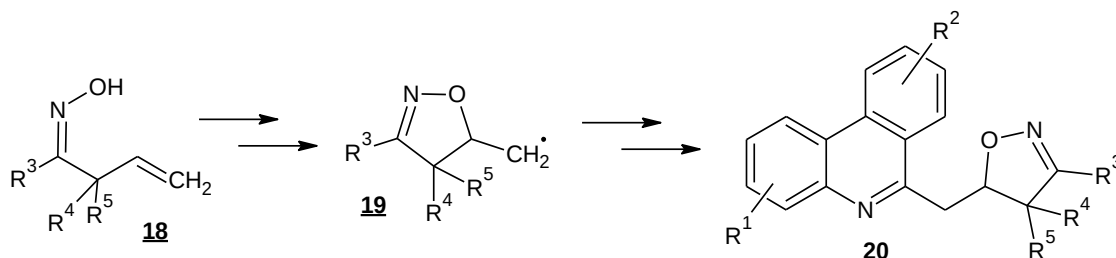
O núcleo 2-isoxazolina foi sintetizado por Piccionello e colaboradores, em 2013, a partir de 1,2,4-oxadiazóis, utilizando o Rearranjo de Boulton–Katritzky (BKR - Boulton– Katritzky Rearrangement). Foram realizadas variações na base utilizada, para averiguar a formação do produto pretendido e o rendimento obtido. Este foi o primeiro relato na literatura da utilização de derivados 1,2,4-oxadiazóis **16** originados por este tipo de rearranjo para formar as respectivas 3-acilamino-isoxazolininas **17** (PALUMBO PICCIONELLO et al., 2013).



Esquema 03. Representação genérica da síntese de 3-acilamino-isoxazolininas **17** a partir de 1,2,4-oxadiazóis **16** realizada por Piccionello et al em 2013.

As cetonas α,β -insaturadas e aldeídos podem dar origem ao núcleo 2-isoxazolina a partir da hidroxilamina. Seguindo essa linha de síntese, Yang et al, em 2014, sintetizaram moléculas a partir de cetoximas α,β -insaturadas **18**, originadas das

respectivas cetonas por via radicalar, utilizando também o radical *terc*-butoxila (*t*-BuO). O produto dessa reação, a 2-isoxazolina, está em uma forma radicalar **19** e é substrato para a formação do produto final obtido **20** (YANG et al., 2014).



Esquema 04. Síntese de isoxazolininas fenantridinas funcionalizadas sintetizadas por Yang et al em 2014.

2.4. TIAZOLIDINA-2,4-DIONA

O núcleo tiazolidina-2,4-diona é heteropentacíclico, assim como as 2-isoxazolininas. Possuem bastante relevância na literatura e na área de química medicinal. Atualmente, vários medicamentos comercializados possuem em seu fármaco o núcleo tiazolidina-2,4-diona, também conhecido como glitazona. Os medicamentos antidiabéticos Avandia®, fabricado pelo laboratório farmacêutico GlaxoSmithKline, que possui o fármaco Rosiglitazona **21** e o medicamento Actos®, fabricado pelo laboratório Takeda, cujo fármaco é a Pioglitazona **22** (MOHAMMED IQBAL et al., 2012; NASTASĂ et al., 2013) são alguns exemplos (Figura 16).

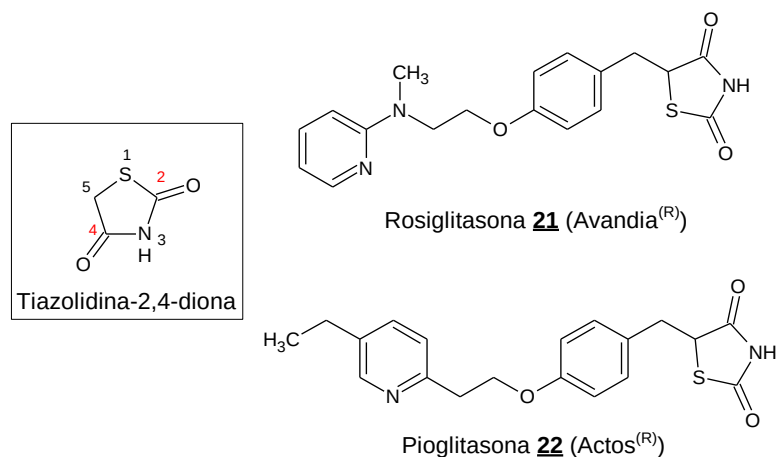


Figura 16. Núcleo tiazolidina-2,4-diona e os fármacos Rosiglitazona **21** e Pioglitazona **22**.

Na literatura são citadas inúmeras atividades biológicas de moléculas contendo esse núcleo, como os derivados 5-Arilideno-2,4-tiazolidinadionas **23** (Figura 17)

sintetizados por Nastasa e colaboradores (2013), que demonstraram atividades anti-inflamatória e antimicrobiana relevantes (NASTASĂ et al., 2013).

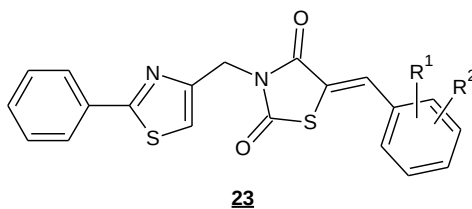
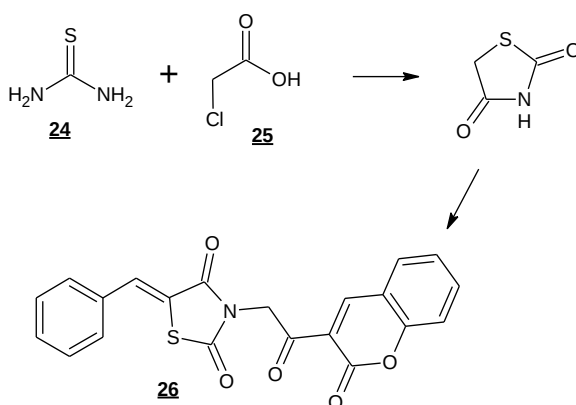


Figura 17. Representação geral dos derivados 5-Arilideno-2,4-tiazolidinadionas **23** sintetizados por Nastasa et al em 2013.

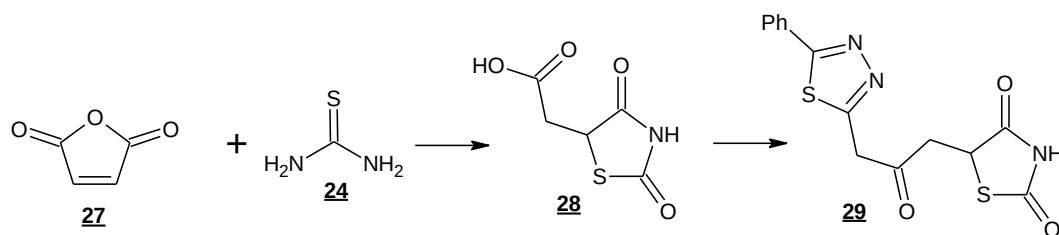
2.4.1. Síntese de tiazolidina-2,4-dionas

Esse núcleo é comumente sintetizado a partir da reação aquosa da tiouréia **24** com o ácido monocloroacético **25**, em refluxo. Mishra, Sachan & Chawla, em 2015, sintetizaram o núcleo tiazolidina-2,4-diona seguindo esse procedimento (Esquema 05). A partir dele vários derivados foram obtidos, como por exemplo o derivado **26**, contendo o núcleo cumarínico, que apresentam resultados promissores quanto às atividades antidiabética, anti-inflamatória e antioxidante (MISHRA; SACHAN; CHAWLA, 2015).



Esquema 05. Síntese de tiazolidina-2,4-dionas realizada por Mishra, Sachan & Chawla, em 2015.

Alegaon & Alagawadi, em 2012, sintetizaram 5-(metilenocarboxil)-2,4-tiazolidinadionas **28** pela reação da tiouréia **24** com o anidrido maléico **27** em meio ácido e aquecimento (Esquema 06). Posteriormente foram feitas condensações com tiadiazóis e então o produto final **29** foi obtido (ALEGAON; ALAGAWADI, 2012).



Esquema 06. Síntese do núcleo tiazolidina-2,4-diona realizada por Alegaon & Alagawadi, em 2012.

2.5. IMIDAZO[1,2-a]PIRAZINA

O núcleo imidazo[1,2-a]pirazina é um importante heterobíciclo aromático formado pela união do anel heterocíclico nitrogenado pirazina com um ciclo imidazol (Figura 24). Inúmeras moléculas são relatadas na literatura apresentando importantes atividades biológicas, contendo esse núcleo como antiproliferativa (GARAMVÖLGYI et al., 2016), antileishmania (MARCHAND et al., 2015), inibidora da aurora quinase (BELANGER et al., 2010), antibacteriana (SAYER et al., 2014), antiviral (HUANG et al., 2015), inibição da polimerização da tubulina (AN et al., 2016), antitrombótica (CHEN et al., 2017) (Figura 18).

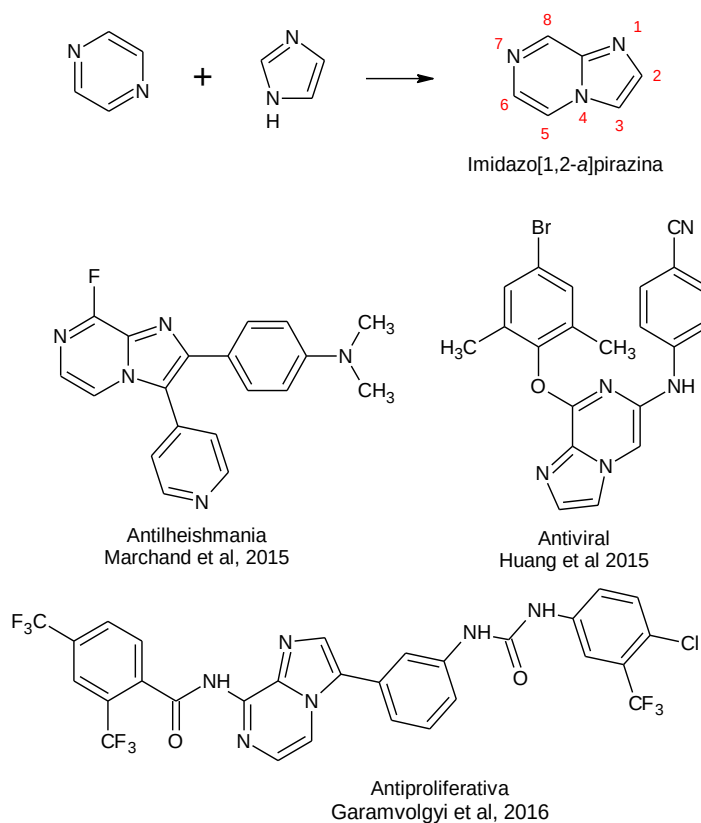
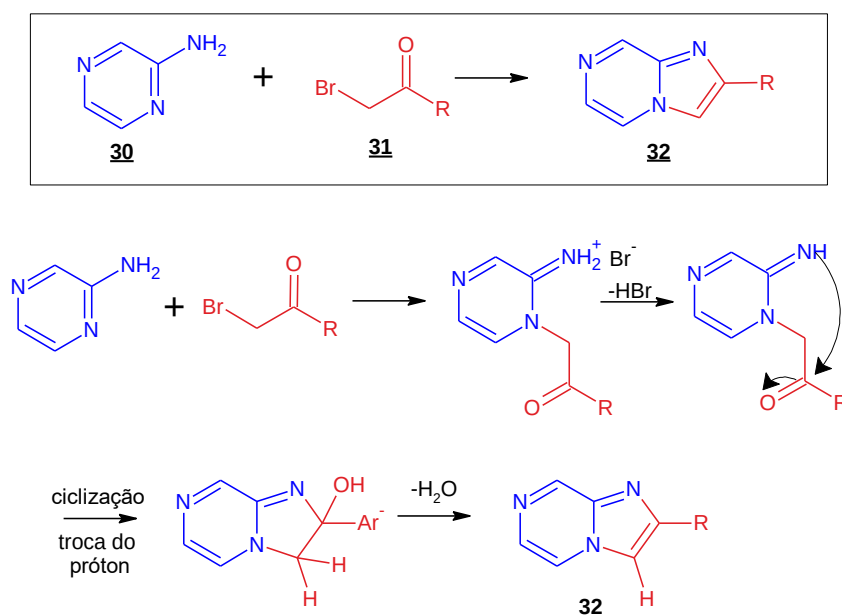


Figura 18. Estrutura básica da imidazo[1,2-a]pirazina e moléculas descritas na literatura contendo esse núcleo com atividade biológica comprovada.

2.5.1. Síntese da imidazo[1,2-a]pirazina

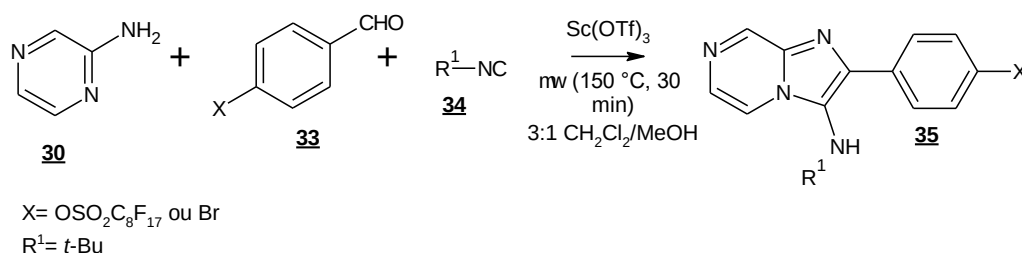
A síntese do núcleo imidazo[1,2-a]pirazina ocorre geralmente a partir de dois componentes, que podem ser a 2-aminopirazina **30** ou derivados dela com compostos α -halocarbonílicos ou α,β -epoxycarbonílicos, ou ainda pela síntese a partir de 3 componentes, que podem ser a 2-aminopirazina **30** ou derivados dela com aldeídos e isonitrila (GOEL; LUXAMI; PAUL, 2015).

Rao e colaboradores (2018) sintetizaram o novas moléculas **32** contendo o núcleo imidazo[1,2-a]pirazina a partir da reação de condensação da 2-aminopirazina **30** com bromo-acetofenonas substituídas **31** (Esquema 07) utilizando água como um dos solventes da reação, partindo de princípios da química verde, e radiação de microondas. Este foi um novo procedimento de reação de heteroanulação sem catalizador desenvolvido por este grupo de pesquisa. O mecanismo de reação (Esquema 07) também foi proposto e, possivelmente a reação ocorre através de uma sequência de substituição bromo nucleofílica seguida de ciclização intramolecular e posterior eliminação de uma molécula de água (RAO et al., 2018).



A síntese do núcleo imidazo[1,2-a]pirazina também pode ser realizada a partir da condensação de três componentes (BLACKBURN et al., 1998). Este tipo de reação

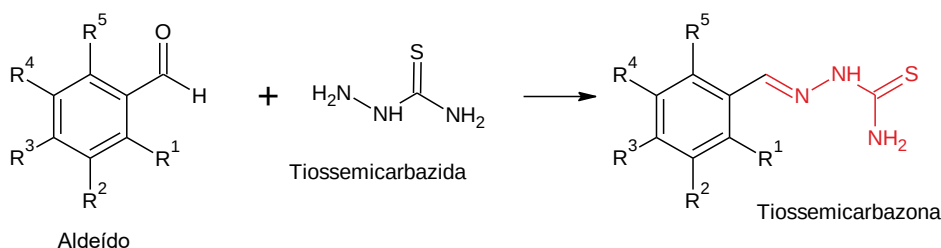
é bastante interessante, pois em uma única etapa é possível formar a molécula desejada. Mckeown e colaboradores (2014) sintetizaram derivados imidazo[1,2-a]pirazina **35** utilizando como reagente a 2-aminopirazina **30**, benzaldeídos substituídos **33** e nitrilas substituídas **34**. A reação (Esquema 08) se processou sob radiação micro-ondas e triflato de escândio ($\text{Sc}(\text{OTf})_3$) foi utilizado como catalisador, com rendimentos significativos (MCKEOWN et al., 2014).



Esquema 08. Síntese de derivados imidazo[1,2-a]pirazina a partir de reação multicomponente realizada por Mckeown e colaboradores (2014).

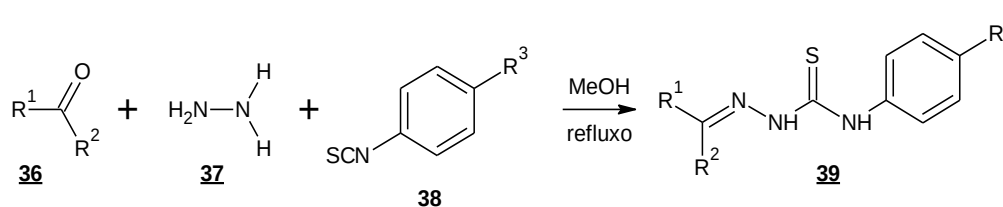
2.6. TIOSSEMICARBAZONAS E TIAZOLIDINONAS

As tiossemicarbazonas são compostos heterociclos de grande importância, pois possuem inúmeras atividades biológicas relatadas na literatura. Sua síntese pode ser realizada diretamente a partir da reação de aldeídos ou cetonas com tiosemicarbazidas, sendo catalizada por ácido em meio alcoólico e sob aquecimento, como representado no Esquema 09 (DA SILVA SANTOS et al., 2017). A síntese desses compostos pode formar uma mistura de isômeros ou a prevalência de um deles. A presença de substituintes pode favorecer a formação de um isômero ou de outro, como demonstraram os estudos realizados por Espíndola e colaboradores, em 2015.



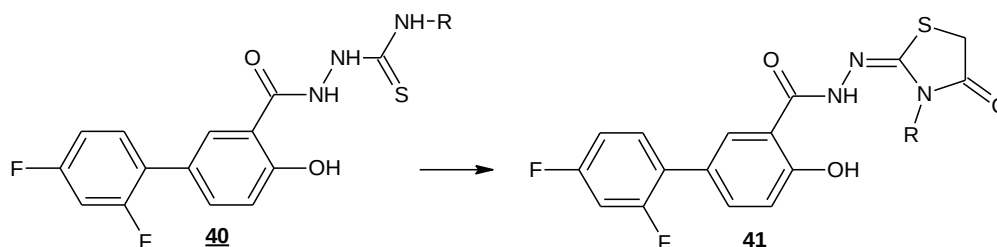
Esquema 09. Síntese geral de tiossemicarbazonas a partir da reação de aldeídos aromáticos e tiosemicarbazida realizada por Da Silva Santos e colaboradores (2017). Função tiossemicarbazona destacada na molécula final.

Silva Cunha, em 2009, desenvolveu uma nova metodologia de síntese (Esquema 10) para novas tiossemicarbazonas **39**, utilizando uma só etapa para a obtenção destas moléculas. A reação multicomponente ocorre pela mistura equimolar do derivado benzaldeído **36**, hidrazina **37** e fenilisotiocianato **38**, sob refluxo em metanol. Os rendimentos obtidos variaram de 25 à 98%. A síntese de tiossemicarbazonas utilizando esses reagentes já foi publicada anteriormente, mas ocorria em duas etapas, sendo a primeira a obtenção do derivado hidrazona, a partir da reação de um aldeído com a hidrazina em seguida reação do derivado hidrazona obtido, com o isotiocianato (CUNHA; SILVA, 2009).



Esquema 10. Síntese multicomponente de tiossemicarbazonas realizada por Cunha Silva em 2009.

Tiazolidinonas são importantes compostos heterocíclicos que podem ser sintetizados de algumas maneiras mas, uma das mais comuns é a partir da ciclização de tiossemicarbazonas com cloroacetato de etila em meio alcoólico com acetato de sódio anidro. Küçüküzümlü e colaboradores, em 2006, sintetizaram 4-tiazolidinonas a partir dessa metodologia sintética (Esquema 11). As moléculas desenvolvidas tiveram sua atividade antiviral verificada. Neste estudo as tiossemicarbazidas **40** precursoras demonstraram maior atividade antiviral do que as respectivas 4-tiazolidinonas **41**(KÜÇÜKGÜZEL et al., 2006).



Esquema 11. Síntese de 4-tiazolidinonas a partir de tiossemicarbazonas com cloroacetato de etila e acetato de sódio anidro em etanol realizada por Küçüküzümlü e colaboradores (2006).

3. CAPÍTULO 1 – SÉRIE 2-ISOXAZOLINA AZA-BICÍCLICA

3.1. OBJETIVOS

3.1.1. Objetivo geral

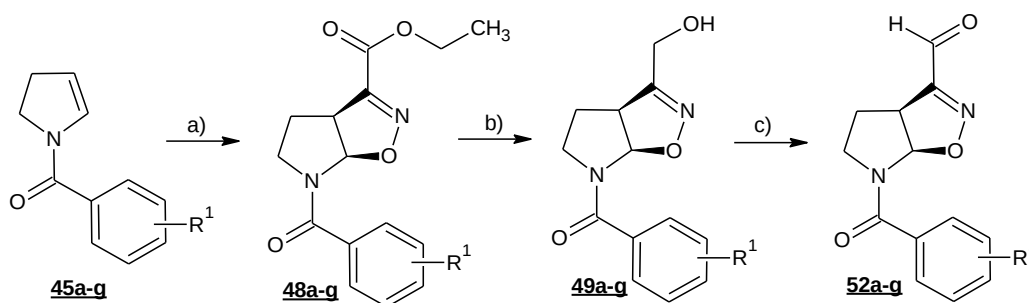
Sintetizar e avaliar a atividade tripanocida de novos derivados híbridos tiazolidina-2,4-diona isoxazolínicos, bem como fazer o estudo de docking destas moléculas.

3.1.2. Objetivos específicos

- a- Síntese da série de novas isoxazolininas tiazolidínicas **56a-q** e **57a-u**, a partir da reação de cicloadição 1,3-dipolar das enamidas endocíclicas **45a-q**.
- b- Purificação e determinação de propriedades físico-químicas das novas moléculas obtidas **56a-q** e **57a-u**.
- c- Elucidação estrutural das novas moléculas **56a-q** e **57a-u** através de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (^1H e ^{13}C), no infra-vermelho e espectrometria de massas.

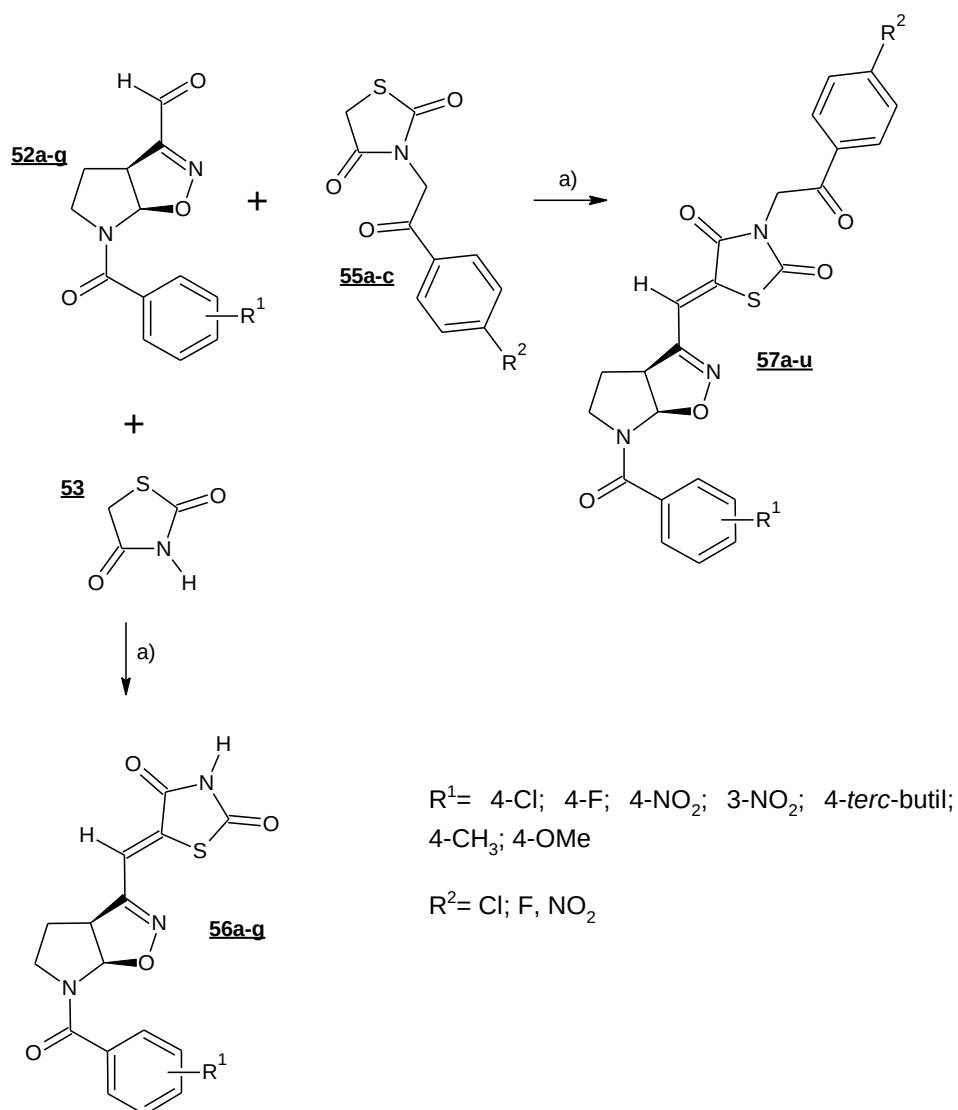
3.2. METODOLOGIA DA PARTE 1

O Esquema 12 representa a rota sintética dos aldeídos isoxazolínicos **52a-g**, intermediários das sínteses das novas moléculas híbridas isoxazolinas/tiazolidina-2,4-diona **56a-g** e **57a-u**. As enamidas endocíclicas **45a-g** são os materiais de partida para a rota sintética. Elas foram obtidas a partir do trímero da 1-pirrolina **43**, que sofre destrimerização em ultrassom. O trímero **43** é obtido pela oxidação da pirrolidina **42**, em meio básico, pelo persulfato de sódio. Então, a cicloadição 1,3-dipolar entre as enamidas endocíclicas **45a-g** e o *N*-óxido de nitrila (óxido de carboetoxiformonitrila – CEFNO) **47a** leva à obtenção dos cicloadutos isoxazolínicos **48a-g** que, após redução do grupamento éster em C3, com o NaBH₄ leva à formação dos respectivos álcoois isoxazolínicos azabicíclicos **49a-g**. Estes sofrem oxidação branda, através da reação de Swern (MANCUSO; HUANG; SWERN, 1978) produzindo os respectivos aldeídos isoxazolínicos azabicíclicos **52a-g** correspondentes (REIS et al., 2011).



Esquema 12. Síntese dos aldeídos isoxazolínicos **52a-g**. Reagentes e condições: a) Cloroxiimidoacetato de etila, TEA (anidra), THF (anidro), 30 min, t.a.; b) NaBH₄, MeOH (anidro), 1 hora a 0 °C e depois 1 hora a t.a.; c) DMSO (anidro), cloreto de oxalila, TEA (anidra), 27 min, -70 °C.

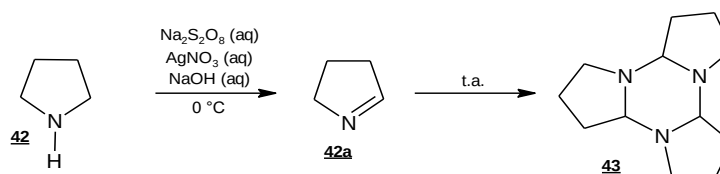
A última etapa da síntese das novas moléculas consiste na condensação da tiazolidina-2,4-diona **53** assim como a condensação de derivados tiazolidínicos *N*-substituídos **55a-g** com os aldeídos isoxazolínicos azabicíclicos **52a-g** (Esquema 13). Essa reação é chamada de “Condensação de Knoevenagel” e ocorre utilizando acetato de sódio anidro como base, em ácido acético glacial como solvente (NASTASĂ et al., 2013).



Esquema 13. Rota sintética para obtenção dos novos derivados isoxazolinicos/tiazolidina-2,4-diona **56a-g** e **57a-u**. Reagentes e condições: AcONa anidro, AcOH glacial, 130 °C, 2horas.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Síntese do trímero da 1-pirrolina **43**



O procedimento experimental de síntese do trímero **43** está descrito no item 3.4.1. O trímero da 1-pirrolina **43** é formado pela oxidação da pirrolidina **42**, em meio básico, com persulfato de sódio à $0\text{ }^\circ\text{C}$. O nitrato de prata é utilizado como catalisador (Nomura *et al*, 1977). Em nosso grupo de pesquisa, foi verificada a importância da agitação vigorosa do meio reacional. Ela é imprescindível para obter bons rendimentos.

A 1-pirrolina **42a** é altamente reativa devido à ligação dupla polarizada e o par de elétrons livres do átomo de nitrogênio. Isto também acarreta uma alta instabilidade, por isso ocorre a formação do trímero **43** (Figura 19). Essa estrutura mais estável é formada em temperatura ambiente, mas, ao fornecer energia térmica ao composto, pode novamente ser obtida a 1-pirrolina **42a**.

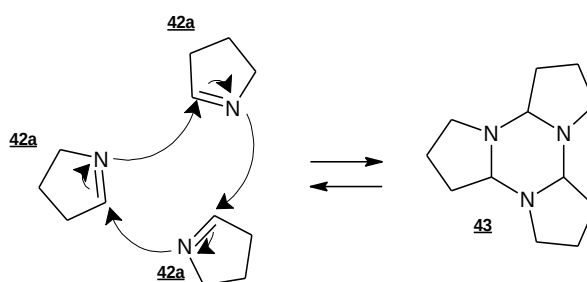
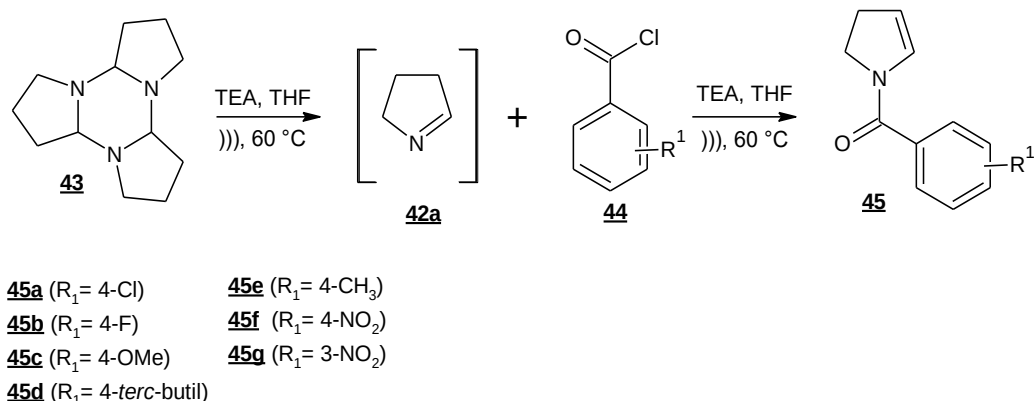


Figura 19. Trimerização da 1-pirrolina **42a**: formação do trímero **43** à temperatura ambiente.

Foi verificado por nosso grupo de pesquisa (dados espectrométricos do item 3.4.1), assim como por Nomura *et al* (1977) e por Kraus & Neuenschwander (1981) a instabilidade do trímero da 1-pirrolina **43**. O trímero é sensível ao aumento da temperatura, bem como na presença de ácidos. Estas perturbações podem levar à sua decomposição. Portanto, este produto não deve ser armazenado por longo período (KRAUS; NEUENSCHWANDER, 1981; YUJIRO *et al.*, 1977).

3.3.2. Síntese das enamidas endocíclicas **45a-g**



A síntese das enamidas *N*-benzoil-substituídas **45a-g**, ocorre em duas etapas. Inicialmente uma solução do trímero da 1-pirrolina **43** (bruto) e TEA foi submetida à sonicação e aquecimento por 30 minutos. Nessa fase ocorre a destrimerização e formação do monômero 1-pirrolina **42a**. É importante a presença da base, TEA, para evitar possível degradação do monômero. Foi verificado que o aumento do tempo desta etapa não levou a alteração do rendimento. Provavelmente a destrimerização do trímero **43** atinge o equilíbrio químico com o monômero **42a**.

A segunda etapa consiste na adição lenta do cloreto de benzoíla *p*-substituído **44**, ainda sob sonicação e aquecimento. O final da reação foi verificado por CCD, através da observação consumo total do cloreto de benzoíla *p*-substituído **44** no ultravioleta (UV).

A alta viscosidade do produto bruto, após isolamento, gerou dificuldades na sua purificação. Essa característica é ocasionada pela presença do cloreto de trietilamônio, um subproduto. O sal não é completamente insolúvel em THF. As tentativas da completa remoção desse subproduto não foram bem-sucedidas, pois acarretaram na degradação da enamida **45a-g**. Primeiramente foi testada a extração aquosa, mas, o caráter anfótero da água fez com que sua ação ácida levasse à rápida degradação do produto principal. A segunda alternativa foi a indução da precipitação do sal utilizando acetato de etila. A degradação da enamida **45a-g** também foi observada, entretanto, mais lentamente quando comparada à extração aquosa. Acetato de etila previamente destilado foi utilizado para eliminar resquícios de ácido acético e outros contaminantes, mesmo assim ocorreu degradação da enamida.

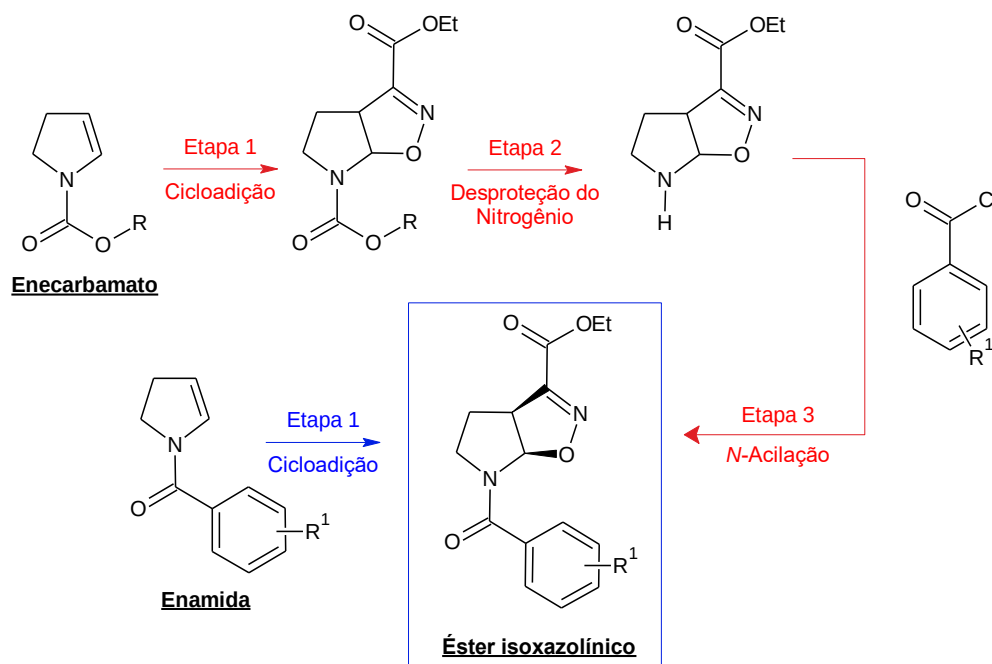
Anteriormente enamidas *N*-aril-substituídas **45a-g** foram sintetizadas em nosso grupo de pesquisa (Dos Santos, 2003) também em duas etapas, sendo a primeira através da co-destilação do monômero da 1-pirrolina **42a** em THF. O aquecimento acarretava a destrimerização e o monômero co-destilava juntamente com o THF, sendo recolhido a -78°C. Nesta temperatura, não havia energia suficiente para degradação do monômero **42a**, ele permanecia estável. A segunda etapa foi realizada adicionando o cloreto de benzoíla *p*-substituído **44** à solução do monômero 1-pirrolina **42a** e TEA em refluxo.

Os rendimentos obtidos através das duas metodologias de síntese estão descritos na Tabela 01. Não foi observada nenhuma mudança drástica, mas, a utilização do trímero bruto **43** e a destrimerização promovida pelo ultrassom é um grande avanço. Essa metodologia é inédita na literatura. Possivelmente a otimização dessa nova forma de síntese das enamidas **45a-g** está no modo de purificação. A revelação em câmara de UV da CCD das reações brutas mostram a formação de praticamente apenas um produto, a respectiva enamida *N*-aril-substituída **45a-g**.

Tabela 01. Rendimentos obtidos na síntese de enamida *N*-aril-substituídas **45a-g** através do ultrassom e através da co-destilação do trímero (Dos Santos, 2003).

Enamidas <i>N</i> -aril-substituídas 45a-g	Rendimento (Ultrassom)	Rendimento (Dos Santos, 2003)
45a : <i>p</i> -Cl	21	-
45b : <i>p</i> -F	24	20
45c : <i>p</i> -OMe	24	28
45d : <i>p</i> -terc-butil	27	50
45e : <i>p</i> -toluil	12	-
45f : <i>p</i> -NO ₂	16	24
45g : <i>m</i> -NO ₂	9	16

Uma rota sintética alternativa a síntese das enamidas **45a-g** pode ser realizada. Em nosso grupo de pesquisa, além das enamidas, foram sintetizados enecarbamatos a partir do trímero da 1-pirrolina **43**, o rendimento obtido ficou entre 55-65%. Entretanto a utilização desta rota aumenta o número de etapas para a obtenção do éster isoxazolíneo *N*-acilado **48a-g**, como mostrado no Esquema 14.



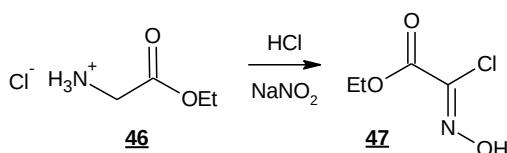
R= Etila, Fenila

R¹= 4-Cl, 4-F, 4-OMe, 4-*tert*-butil, 4-CH₃, 4-NO₂, 3-NO₂

Esquema 14. Rotas alternativas para a síntese do éster isoxazolinico. Rota vermelha: a síntese a partir do enecarbamato possui 3 etapas. Rota azul: a síntese a partir das enamidas possui uma etapa.

Para a escolha do procedimento da síntese das enamidas **45a-g**, através da co-destilação do trímico da 1-pirrolina **43** ou destrimerização do trímico bruto via ultrassom, os dois procedimentos foram testados, mas os rendimentos obtidos na síntese pela co-destilação, tanto dos enecarbamatos como de enamidas, foi mais baixo que os relatados por Dos Santos e Almeida et al. Provavelmente o problema está na co-destilação do monômero 1-pirrolina **42a** não sendo efetivo. Portanto, foi escolhida a síntese das enamidas *N*-aril substituídas **45a-g** como melhor forma para a obtenção mais rápida dos cicloadutos isoxazolinicos **48a-g**, apesar dos baixos rendimentos.

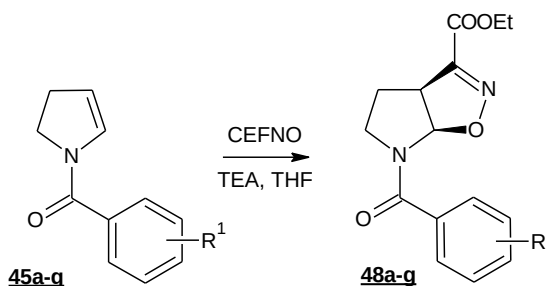
3.3.3. Síntese do clorooximidoacetato de etila **47**: precursor do CEFNO **47a**



O clorooximidoacetato de etila **47** foi formado a partir da oxidação do cloridrato de glicina esterificada **46** comercial, sendo utilizado nitrito de sódio como agente oxidante. Esta é uma oxidação em meio ácido. A estabilidade de **47** propicia a possibilidade de produção em escala multi-gramas para armazenamento. Sua purificação é realizada pela recristalização em hexano. O rendimento obtido nesta reação foi de 39%.

Na reação de cicloadição 1,3-dipolar com as enamidas endocíclicas **45**, o óxido de carboetoxiformonitrila **47a**, CEFNO, é formado *in situ* a partir do clorooximidoacetato de etila **47**.

3.3.4. Síntese racêmica do éster isoxazolínico **48a-g**



A formação do núcleo isoxazolínico aza-bicíclico, presente no cicloaduto **48a-g**, acontece nessa etapa de síntese. Ele é formado pela reação de cicloadição 1,3-dipolar entre as enamidas endocíclicas **45a-g** e o óxido de carboetoxiformonitrila (CEFNO) **47a**, formado *in situ* pela reação do seu precursor, o clorooximidoacetato de etila **47** e a base trietilamina.

Para a obtenção do éster isoxazolínico **48a-g**, uma solução do precursor clorooximidoacetato de etila **47** foi adicionada lentamente sob uma solução da respectiva enamida endocíclica **45a-g** e TEA, sob temperatura ambiente. A adição lenta do precursor do dipolo é de extrema importância para diminuir a formação do dímero do CEFNO **47b** (Figura 20). Através do acompanhamento da reação de cicloadição por CCD é possível verificar a formação do dímero, isto leva ao comprometimento do rendimento da reação. Por este motivo, tanto o precursor **47** quanto a TEA estão em excesso no meio reacional.

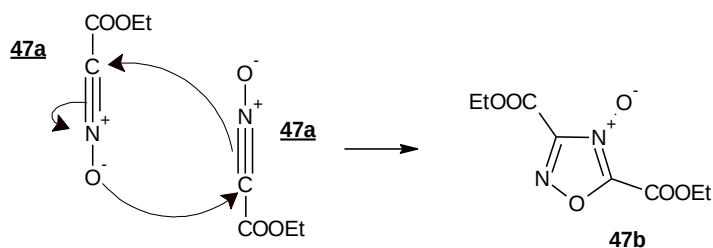


Figura 20. Dimerização do CEFNO.

A síntese dos respectivos cicloadutos isoxazolínicos **48a-g** aconteceu como previsto em trabalhos prévios (DE ALMEIDA et al., 2009) e os rendimentos podem ser verificados na Tabela 02.

Tabela 02. Rendimentos obtidos nas reações de cicloadição 1,3-dipolar

Cicloadutos isoxazolínicos 48a-g	Rendimentos (%)
48a : <i>p</i> -Cl	66
48b : <i>p</i> -F	38
48c : <i>p</i> -OMe	66
48d : <i>p</i> -terc-butil	58
48e : <i>p</i> -toluil	55
48f : <i>p</i> -NO ₂	44
48g : <i>m</i> -NO ₂	79

Dos Santos, em 2003, propôs um possível mecanismo de síntese do núcleo 2-isoxazolina aza-bicíclico (Figura 21). A reação de cicloadição é controlada pelos Orbitais Moleculares de Fronteira. Neste caso, devido a linearidade do *N*-óxido de nitrila CEFNO (dipolo do tipo alenil), ocasionada pela hibridização *sp* do carbono e do nitrogênio, e a polaridade da ligação dupla do dipolarófilo, há a formação de intermediário, o *N*-acil-imínio, com posterior formação da segunda ligação e ciclização. Essa segunda ligação é possível devido a mudança da hibridização do átomo de nitrogênio, que passa de *sp* para *sp*². Uma angulação é formada e então a segunda aproximação frontal dos orbitais acontece, formando a segunda ligação sigma. O mecanismo reacional que não acontece em uma só fase, e que passa por intermediário, é dito não-concertado (SANTOS, 2003).

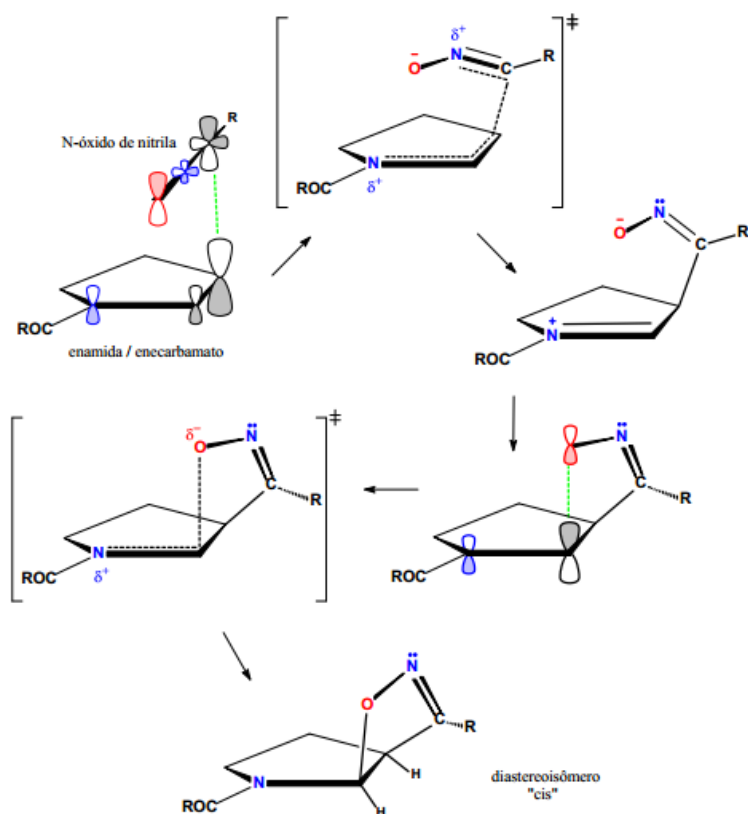
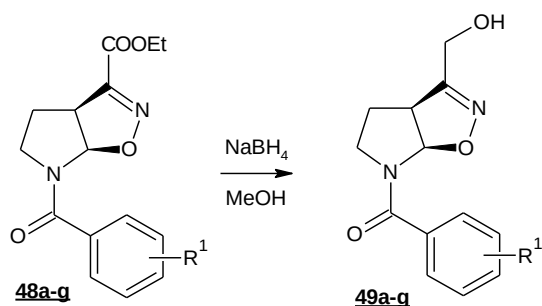


Figura 21. Proposta do mecanismo da cicloadição 1,3-dipolar entre enamidas endocíclicas ou enecarbamatos com o N-óxido de nitrila CEFNO.

3.3.5. Síntese dos álcoois isoxazolínicos **49a-g**



Os ésteres isoxazolínicos **48a-g** foram reduzidos utilizando o NaBH_4 como agente redutor. O objetivo principal dessa reação é a posterior obtenção do aldeído isoxazolínico **52a-g**. Entretanto, a redução da porção éster em C3 diretamente para a função aldeído não ocorreu. Em trabalhos anteriores do grupo de pesquisa, Reis *et al* (2011) verificaram experimentalmente que a tentativa de redução da função éster C3 para a função aldeído utilizando DIBAL-H ou superhidreto $[(\text{Et}_3\text{AlH})\text{Li}]$, redutores brandos, não surtiu efeito. A utilização de um redutor mais forte não seria ideal, como

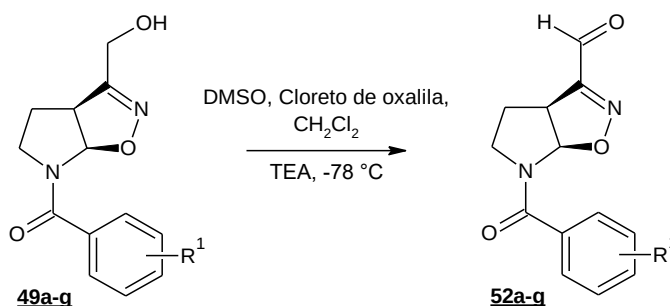
LiAlH_4 , porque ocasionaria a redução também da função amida (oriunda inicialmente das enamidas).

Durante a redução do éster etílico **48a-g**, pôde ser verificada a ocorrência da formação do éster metílico. Devido a transesterificação e a qualidade do boroidreto, também influenciada pelo tempo de armazenamento, há a necessidade de adicionar excesso do agente redutor. Os respectivos álcoois isoxazolínicos **49a-g** foram formados com bons rendimentos, como mostrado na Tabela 03.

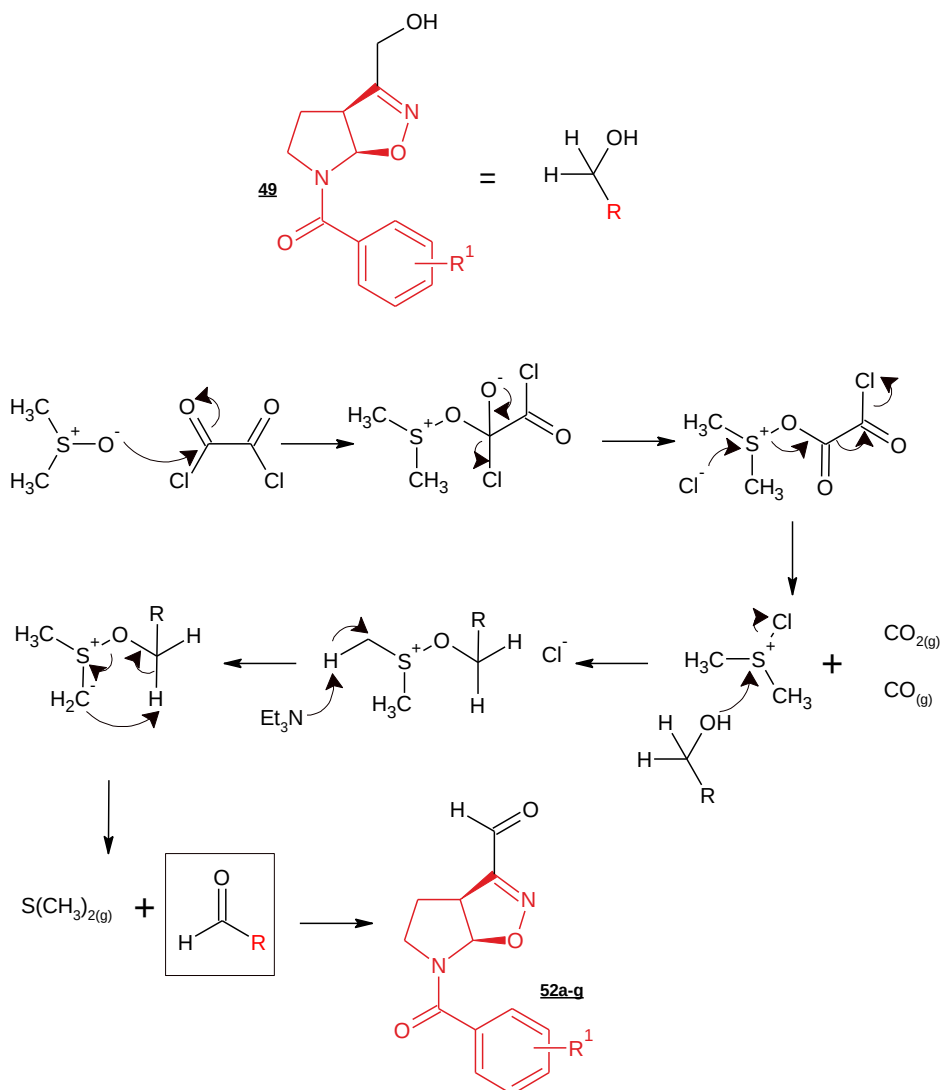
Tabela 03. Rendimentos obtidos nas reações de redução dos ésteres isoxazolínicos **48a-g** aos respectivos álcoois **49a-g**.

Cicloadutos isoxazolínicos 49a-g	Rendimentos (%)
49a : <i>p</i> -Cl	65
49b : <i>p</i> -F	96
49c : <i>p</i> -OMe	87
49d : <i>p</i> -terc-butil	86
49e : <i>p</i> -toluil	72
49f : <i>p</i> -NO ₂	73
49g : <i>m</i> -NO ₂	62

3.3.6. Síntese dos aldeídos isoxazolínicos **52a-g**



A oxidação de Swern dos álcoois isoxazolínicos **49a-g** ocorreu pela ação do DMSO, que foi ativado pelo cloreto de oxalila, formando o ânion cloro-dimetilssulfônico. Após o ataque nucleofílico do álcool **49a-g** ao ânion cloro-dimetilssulfônico, há a formação do ínion alcóxissulfônico, que por fim, através da ação da base trietilamina, o aldeído isoxazolíno **52a-g** é formado, com a formação dos subprodutos cloreto de trietilamônio e o dimetilssulfeto que apresenta odor forte característico (MANCUSO; HUANG; SWERN, 1978). O Esquema 15 apresenta o possível mecanismo de obtenção dos aldeídos isoxazolínicos **52a-g**.



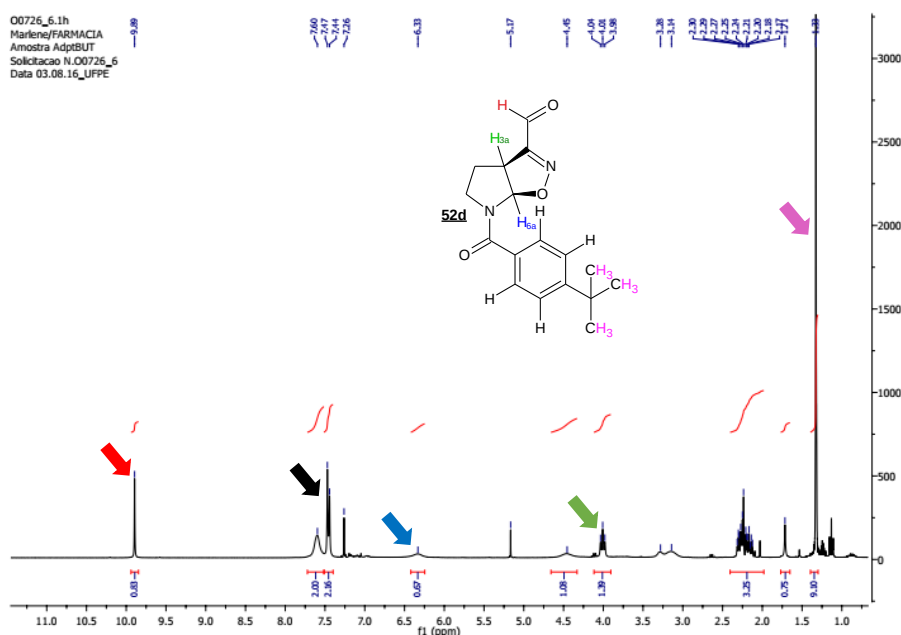
Esquema 15. Provável mecanismo reacional da oxidação de Swern dos álcoois isoxazolínicos **49a-g** e formação dos aldeídos isoxazolínicos **52a-g**.

Durante a execução das reações de oxidação de Swern algumas dificuldades foram encontradas, como o baixo rendimento e a degradação dos aldeídos obtidos dessas reações. Essa metodologia promove a obtenção dos aldeídos com rendimentos satisfatórios (REIS et al., 2011); dessa forma foi feita a destilação do reagente cloreto de oxalila, sob atmosfera inerte de argônio. Na síntese do aldeído isoxazolínico **52d** a solução de DMSO não foi adicionada de uma única vez, isso comprometeu o rendimento, como pode ser vista na tabela de rendimentos abaixo (Tabela 04).

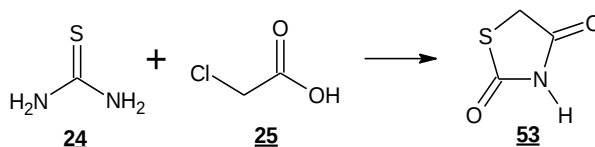
Tabela 04. Rendimentos obtidos na síntese dos aldeídos isoxazolínicos **52a-g**.

Aldeídos isoxazolínicos 52 a-g	Rendimentos (%)
52a : <i>p</i> -Cl	95
52b : <i>p</i> -F	96
52c : <i>p</i> -OMe	86
52d : <i>p</i> - <i>terc</i> -butil	45
52e : <i>p</i> -toluil	70
52f : <i>p</i> -NO ₂	54
52g : <i>m</i> -NO ₂	70

Os novos aldeídos sintetizados foram caracterizados estruturalmente através da espectroscopia de RMN de ¹H e de ¹³C, como também pela identificação dos grupos funcionais utilizando seus espectros no infravermelho. No espectro de RMN de ¹H do aldeído isoxazolínico **52d** (Figura 22), podem ser verificados os picos em 1,32 ppm e em 9,89 ppm que correspondem aos hidrogênios das metilas do grupamento *terc*-butil e o hidrogênio da função aldeído (altamente desblindado), respectivamente. Também aparecem os hidrogênios do anel aromático em 7,45 e 7,59 ppm. Os hidrogênios presentes no núcleo 2-isoxazolina aza-bicíclica possuem deslocamentos e comportamentos semelhantes em todos os aldeídos isoxazolínicos sintetizados. Podem ser visualizados neste espectro, por exemplo, um tripleto (*J* = 8,4Hz) em 4,00 ppm correspondente ao hidrogênio 3a que acopla com dois hidrogênios diferentes (porém com constantes de acoplamento muito próximas) e o pico alargado em 6,33 ppm que corresponde ao hidrogênio 6a, ambos presentes na junção do biciclo.

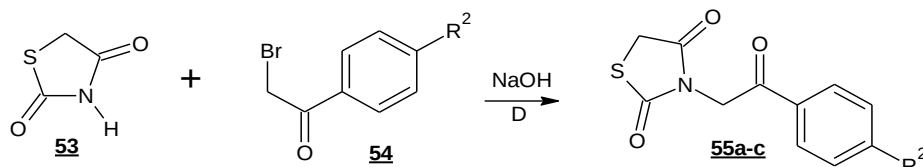
Figura 22. Espectro de RMN de ¹H do aldeído isoxazolínico **52d** com destaque os picos correspondentes a alguns hidrogênios presentes na molécula.

3.3.7. Síntese da tiazolidina-2,4-diona **53**



A tiazolidina-2,4-diona foi sintetizada seguindo o procedimento utilizado por Mishra, Sachan & Chawla (2015). Uma mistura aquosa contendo tiouréia **24** e ácido monocloroacético **25** foi submetida à refluxo por 25 horas. Sua baixa solubilidade em água proporciona a purificação por recristalização nesse solvente. Os cristais brancos obtidos foram submetidos à análise do ponto de fusão (PF) para a confirmação da síntese. Por possuir suas características bastante elucidadas na literatura, o PF foi o único método utilizado para verificação de sua obtenção. O composto, tiazolidina-2,4-diona **53**, também pode ser encontrado comercialmente, mas, para diminuir custos e por possuir fácil metodologia de síntese decidimos sintetizá-lo em laboratório.

3.3.8. Síntese dos derivados tiazolidina-2,4diona *N*-acilados **55a-c**.



A tiazolidina-2,4-diona **53** sofreu *N*-alquilação com 2-bromo ou 2-cloro acetofenona **54**. Essa reação aconteceu em meio básico, utilizando NaOH como base, sob refluxo. A confirmação de formação do produto foi feita através de sua caracterização espectrométrica, como pode ser observado na Figura 23. A presença dos hidrogênios do anel aromático destacados nas cores vermelha e azul. As moléculas **55a-c** possuem 8 hidrogênios cada, mas, nos espectros verificamos 4 sinais devido à presença de hidrogênios homotópicos e enantiotópicos.

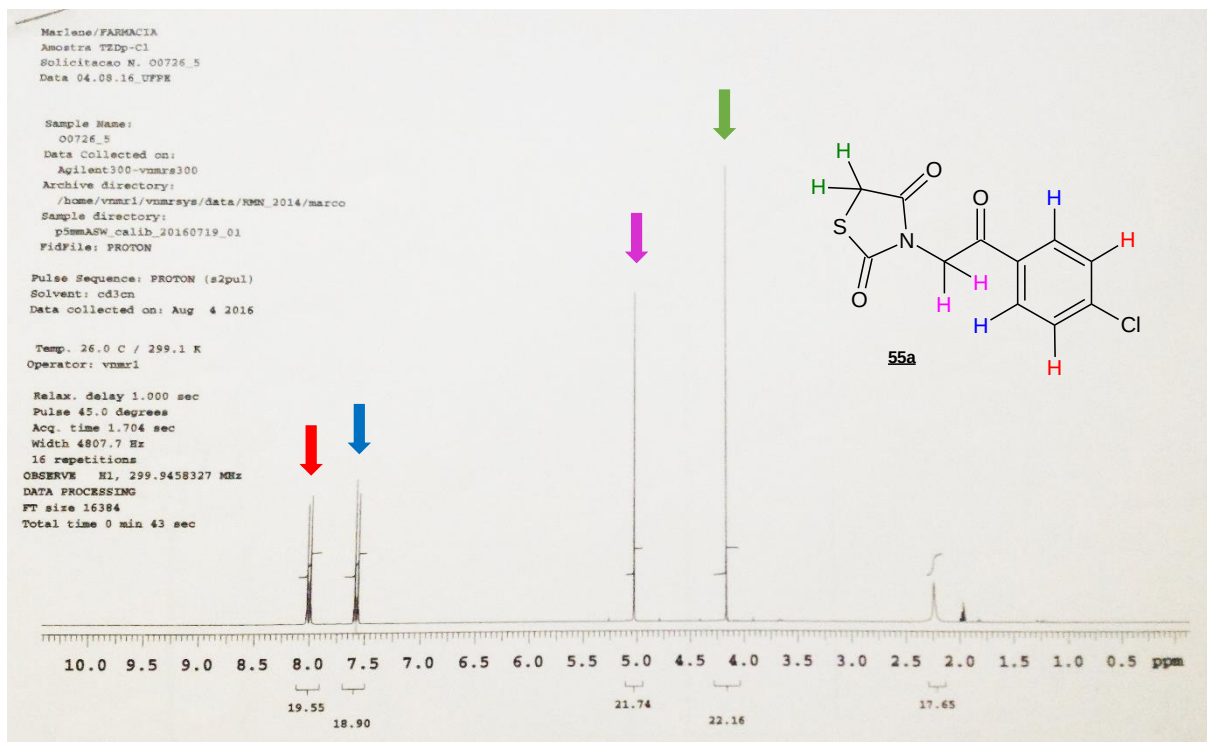
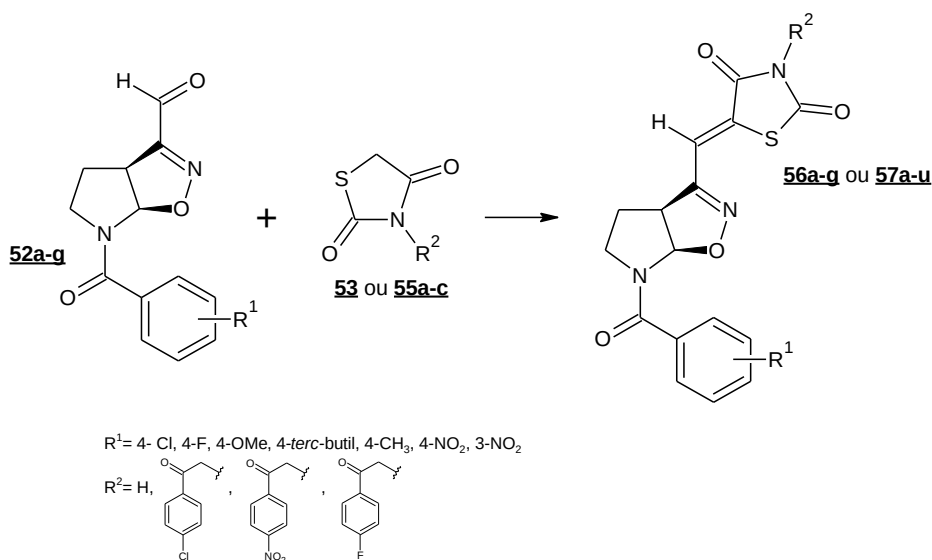


Figura 23. Espectro de ^1H RMN da tiazolidina-2,4-diona *N*-acilada **55a**.

3.3.9. Condensação dos aldeídos isoxazolínicos **52a-g** com as tiazolidinas-2,4-diona **53** e **55a-c**

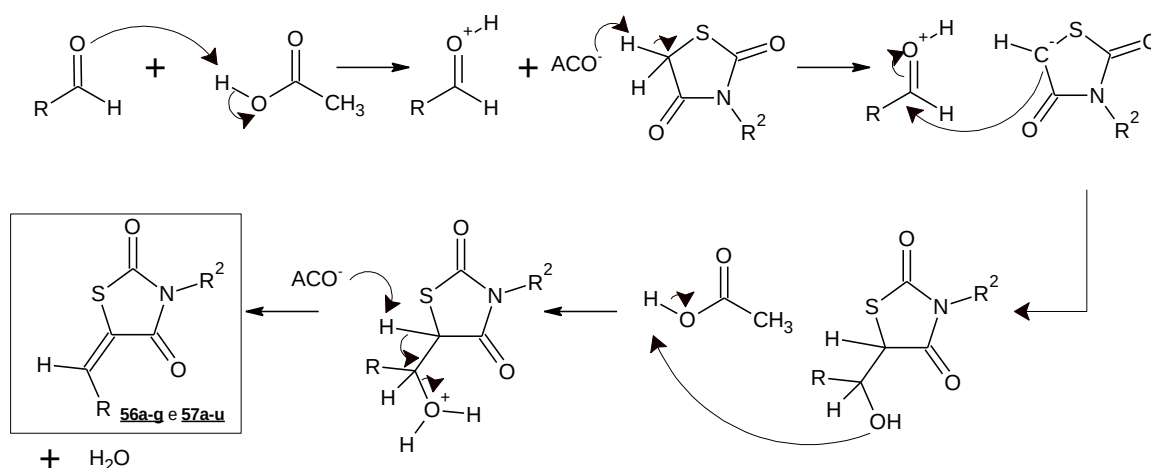


A síntese dos compostos finais **56a-g** e **57a-u**, propostos nesse trabalho, foi realizada segundo a metodologia utilizada por Nastasa *et al*, em 2013. Essa reação consiste em uma reação de condensação aldólica, mais conhecida como Reação de Knoevenagel. O aldeído isoxazolínicos **52a-g** foi condensado com a tiazolidina-2,4-

diona **53** e **55a-c** e foram utilizados o acetato de sódio anidro como base e o ácido acético glacial como solvente.

Inicialmente outro catalisador foi testado. Utilizamos piperidina e acetato de piperidínio como reagente e catalisador, respectivamente, e fizemos modificações com solventes, THF e etanol. Esses solventes foram usados em reações distintas e ambos foram secos e destilados previamente. Essa metodologia gerou uma maior quantidade de subprodutos, mesmo transcorrendo em 15 minutos, ocasionando uma purificação mais difícil e dispendiosa. Ao modificarmos o reagente e solvente, utilizando o acetato de sódio anidro e o ácido acético glacial, obtivemos uma síntese mais limpa, entretanto um pouco mais demorada. O tempo médio da reação foi de duas horas.

Na metodologia utilizada neste trabalho, o acetato de sódio anidro foi utilizado em excesso. Na condensação de Knoevenagel, uma molécula de água é eliminada, então, esse sal também serve como agente dessecante, fazendo com que o equilíbrio seja deslocado para a formação do produto. O esquema 16, mostra o mecanismo de obtenção das novas moléculas **56a-g** e **57a-u**, onde pode ser verificada a saída da molécula de água e a formação do carbânion, fenômenos presentes nesse tipo de reação.



Esquema 16. Possível mecanismo de síntese dos novos derivados isoxazolinas-tiazolidina-2,4-diona **56a-g** e **57a-u** (Condensação de Knoevenagel).

A purificação dos novos produtos foi feita através de lavagens com solventes elevando a polaridade gradativamente, se necessário. Os solventes utilizados foram principalmente o etanol e o metanol, sendo o acetato de etila também utilizado

algumas vezes. Também foi realizada a purificação através de cromatografia em coluna “Flash”, entretanto não foi obtido êxito. Tanto na lavagem com os solventes citados, em alguns casos como na cromatografia, persistia a presença de uma impureza colorida que não pôde ser revelada, utilizando os reveladores mais comuns em cromatografia de camada delgada (luz ultravioleta, I₂ e ácido fosfomolibdico). Por isso, consideramos a filtração em carvão ativado, mas, foi percebido que esse reagente também adsorvia parte do produto. Houve a necessidade de repetir as lavagens em algumas purificações. Todo o sobrenadante reservado teve o solvente eliminado e o sólido resultante passou pelo mesmo processo de purificação. Isso foi feito para a obtenção de um maior rendimento possível. A Tabela 05 apresenta todos os valores de rendimentos das moléculas finais **56a-g** e **57a-u**.

Tabela 05. Rendimentos obtidos na síntese das novas moléculas híbridas isoxazolina/tiazolidina-2,4-diona condensadas com a tiazolidina-2,4-diona **53** e o derivado tiazolidina-2,4-diona **55a-c**.

Produtos finais	R ₁	R ₂	Rend. (%)	Produtos finais	R ₁	R ₂	Rend. (%)
56a	<i>p</i> -Cl	H	24	57h	<i>p</i> -OMe	-CH ₂ COC ₆ H ₄ NO ₂	54
56b	<i>p</i> -F	H	36	57i	<i>p</i> -OMe	-CH ₂ COC ₆ H ₄ F	55
56c	<i>p</i> -OMe	H	41	57j	<i>p</i> - <i>tert</i> -butil	-CH ₂ COC ₆ H ₄ Cl	48
56d	<i>p</i> - <i>tert</i> -butil	H	68	57k	<i>p</i> - <i>tert</i> -butil	-CH ₂ COC ₆ H ₄ NO ₂	81
56e	<i>p</i> -CH ₃	H	41	57l	<i>p</i> - <i>tert</i> -butil	-CH ₂ COC ₆ H ₄ F	63
56f	<i>p</i> -NO ₂	H	27	57m	<i>p</i> -CH ₃	-CH ₂ COC ₆ H ₄ Cl	53
56g	<i>m</i> -NO ₂	H	37	57n	<i>p</i> -CH ₃	-CH ₂ COC ₆ H ₄ NO ₂	71
57a	<i>p</i> -Cl	-CH ₂ COC ₆ H ₄ Cl	55	57o	<i>p</i> -CH ₃	-CH ₂ COC ₆ H ₄ F	67
57b	<i>p</i> -Cl	-CH ₂ COC ₆ H ₄ NO ₂	69	57p	<i>p</i> -NO ₂	-CH ₂ COC ₆ H ₄ Cl	38
57c	<i>p</i> -Cl	-CH ₂ COC ₆ H ₄ F	36	57q	<i>p</i> -NO ₂	-CH ₂ COC ₆ H ₄ NO ₂	30
57d	<i>p</i> -F	-CH ₂ COC ₆ H ₄ Cl	61	57r	<i>p</i> -NO ₂	-CH ₂ COC ₆ H ₄ F	50
57e	<i>p</i> -F	-CH ₂ COC ₆ H ₄ NO ₂	63	57s	<i>m</i> -NO ₂	-CH ₂ COC ₆ H ₄ Cl	61
57f	<i>p</i> -F	-CH ₂ COC ₆ H ₄ F	24	57t	<i>m</i> -NO ₂	-CH ₂ COC ₆ H ₄ NO ₂	75
57g	<i>p</i> -OMe	-CH ₂ COC ₆ H ₄ Cl	52	57u	<i>m</i> -NO ₂	-CH ₂ COC ₆ H ₄ F	44

Todas as novas moléculas híbridas isoxazolinicas/tiazolidina-2,4-diona **56a-g** e **57a-u** foram caracterizadas através dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C, IV-ATR e de massas, como também tiveram suas características físico-químicas determinadas. Todos os espectros podem ser encontrados nos apêndices desse trabalho. A Figura 24 apresenta o espectro de RMN de hidrogênio da nova molécula híbrida isoxazolina/tiazolidina-2,4-diona **56d**. Podem ser vistos sinais que confirmam a formação desta molécula, como o singlete em 12,66 ppm, integrando para 1 hidrogênio. Este átomo está ligado diretamente ao átomo de nitrogênio da porção

tiazolidina-2,4-diona, por isso, sua nuvem eletrônica bastante deslocalizada, acarretando seu aparecimento em campo baixo. Outro hidrogênio característico da formação dessa nova molécula é o hidrogênio vinílico, que aparece como um singlete em 7,30 ppm, que integra também para 1 hidrogênio.

A Figura 24 apresenta também sinais de outros hidrogênios presentes na molécula, como aqueles do anel aromático em 7,51 ppm. Os sinais dos rotâmeros do hidrogênio 6a da junção do anel 2-isoxazolina azabíciclica aparecem em 6,23 e 6,72 ppm confirmando a presença da isoxazolina aza-bicíclica. O sinal referente aos hidrogênios das 3 metilas presentes no grupamento *terc*-butila pode ser visualizado em 1,30 ppm. Esse sinal se apresenta como um singlete que possui área de integral para 9 hidrogênios.

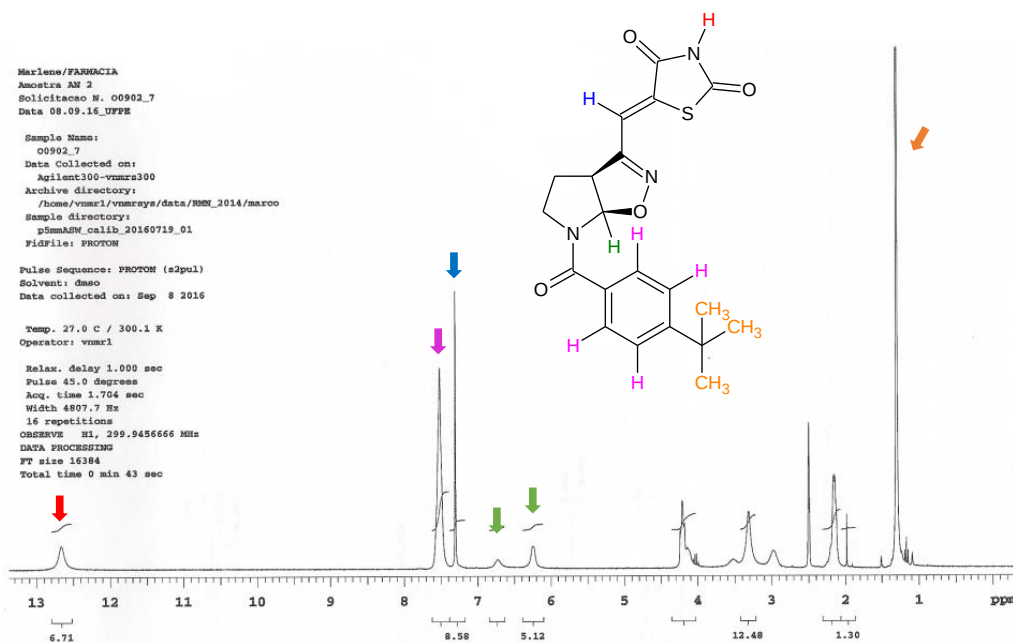


Figura 24. RMN de ^1H da nova molécula híbrida isoxazolina/tiazolidina-2,4-diona **56d**.

A nova molécula híbrida isoxazolina/tiazolidina-2,4-diona **56d** também foi caracterizada por espectro de RMN de ^{13}C . Foram feitas duas análises, modificando apenas a temperatura do experimento. No espectro obtido à 27°C (Figura 25) não foi possível visualizar todas as carbonilas presentes na molécula, entretanto, no espectro obtido em 65°C (Figura 26) é possível visualizar dois sinais bastante próximos em 168,49 e 168,16 ppm. No espectro obtido à 27°C só era possível visualizar um sinal, em 168,49 ppm, com uma base alargada; possivelmente houve coincidência dos sinais. No espectro de RMN de ^{13}C obtido à 65°C observamos apenas um sinal coalescido em 94,47 ppm que corresponde a um CH da junção do anel isoxazolininas.

No espectro obtido em temperatura mais baixa observamos dois sinais para o mesmo carbono. Esses são sinais de rotâmeros de um mesmo carbono, detectado em dois momentos diferentes. Isto ocorre devido à baixa velocidade de rotação do grupamento carbamida. Quando a temperatura é aumentada, a velocidade de rotação deste grupamento aumenta e, isto faz com que apenas um sinal coalescido apareça. Em outros sinais de rotâmeros também podem ser observadas suas coalescências.

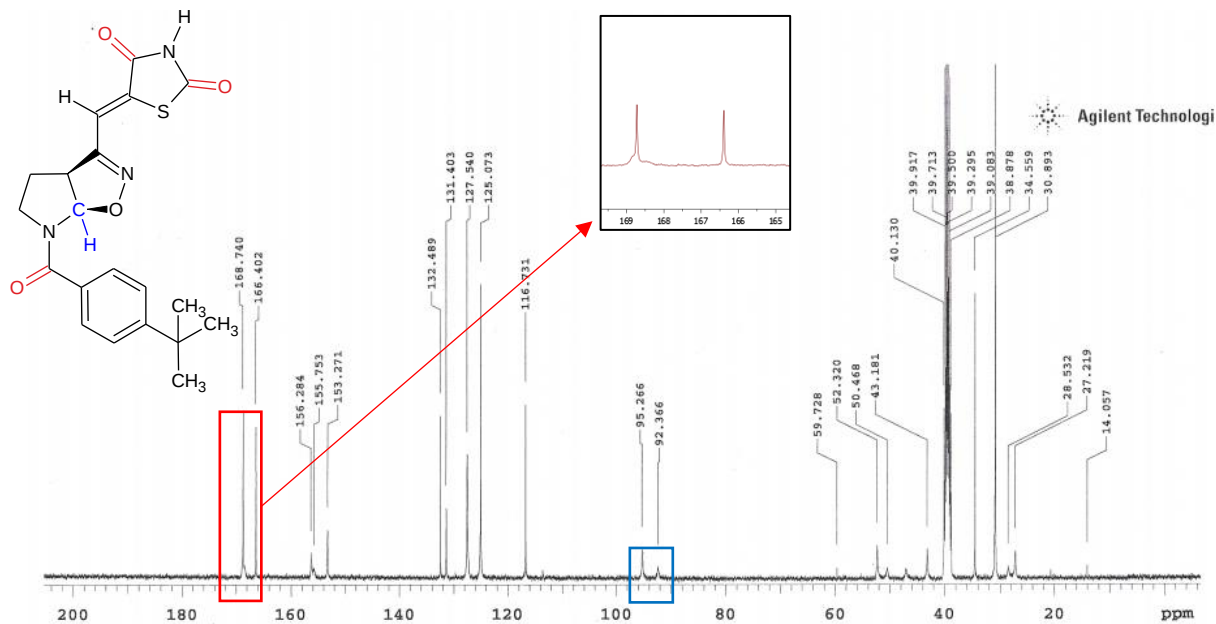


Figura 25. Espectro de RMN ^{13}C da molécula híbrida isoxazolina/tiazolidina-2,4-diona **56d** obtido a 27°C.

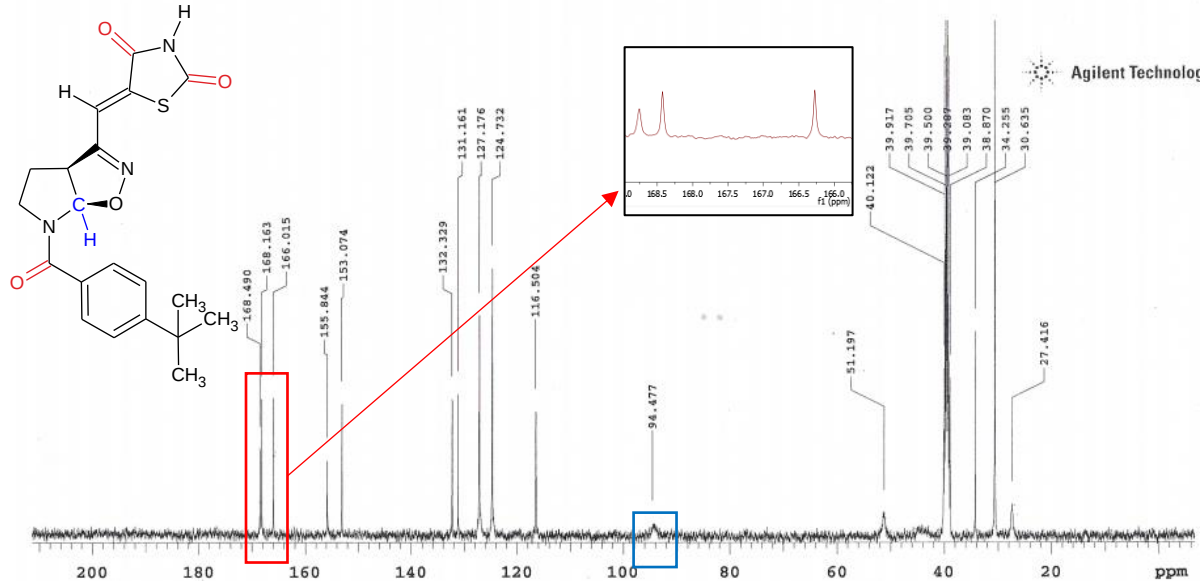


Figura 26. Espectro de RMN ^{13}C da molécula híbrida isoxazolina/tiazolidina-2,4-diona **56d** obtido a 65°C.

As novas moléculas híbridas isoxazolinas/tiazolidina-2,4-diona **56a-g** e **57a-u** possuem isomeria geométrica. Esta isomeria é formada na condensação de Knoevenagel e existem vários relatos na literatura (AVUPATI et al., 2012; RÊGO et al., 2014) de que há a formação apenas do isômero Z. A síntese dos híbridos foi acompanhada por CCD e o mesmo comportamento foi apresentado, formação de apenas um único isômero. Diante disso foram realizados estudos bidimensionais de espectroscopia de RMN, a fim de provarmos o que é relatado na literatura para o nosso sistema.

O espectro bidimensional de RMN por correlação HMBC da molécula híbrida isoxazolinas/tiazolidina-2,4-diona **56d** (Figura 27) apresenta a correlação do hidrogênio vinílico em 7,30 ppm com os carbonos em 52,62 ppm, 155,99 ppm e 166,92 ppm. Este último corresponde a um carbono de carbonila. Essa correlação aparece no espectro por acoplamento máximo J^3 , portanto, essa carbonila pertence ao núcleo tiazolidina-2,4-diona. Diante destes resultados, foi feito um espectro RMN de ^{13}C acoplado com hidrogênio (Figura 28). Nesse espectro aparece um dubleto em 166,85 ppm (deslocamento do carbono da carbonila do núcleo tiazolidínico). A constante de acoplamento J^3 encontrada foi de 6,75Hz. Esse valor corresponde a um acoplamento de átomos em isomeria geométrica do tipo Z. Portanto, foi confirmada a formação do isômero conforme relatado na literatura para sistemas análogos.

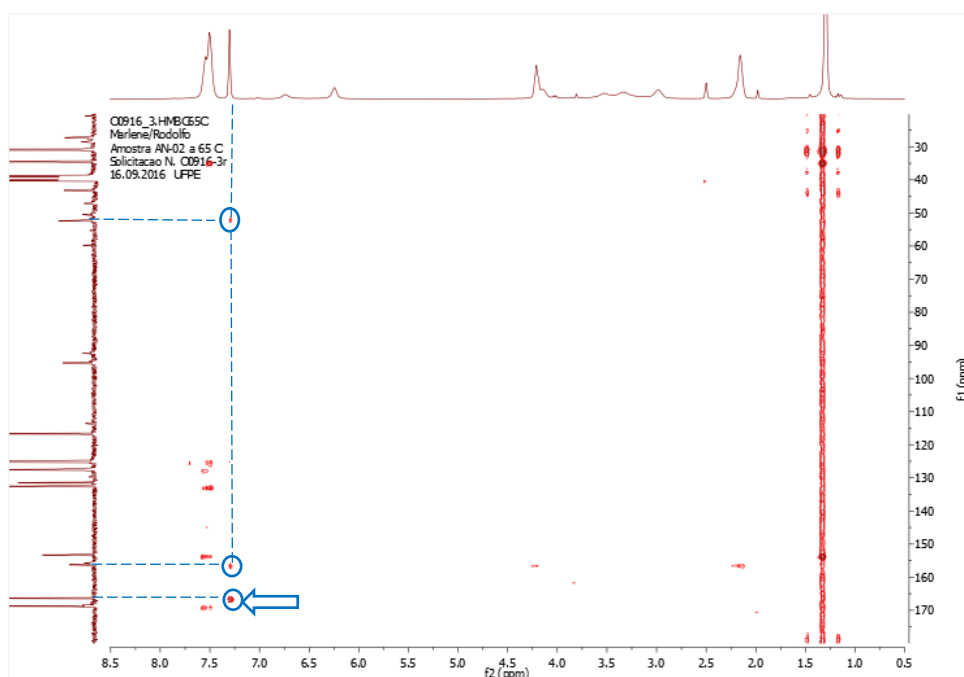


Figura 27. Espectro de RMN por correlação HMBC da molécula híbrida isoxazolina/tiazolidina-2,4-diona **56d** obtido a 65°C.

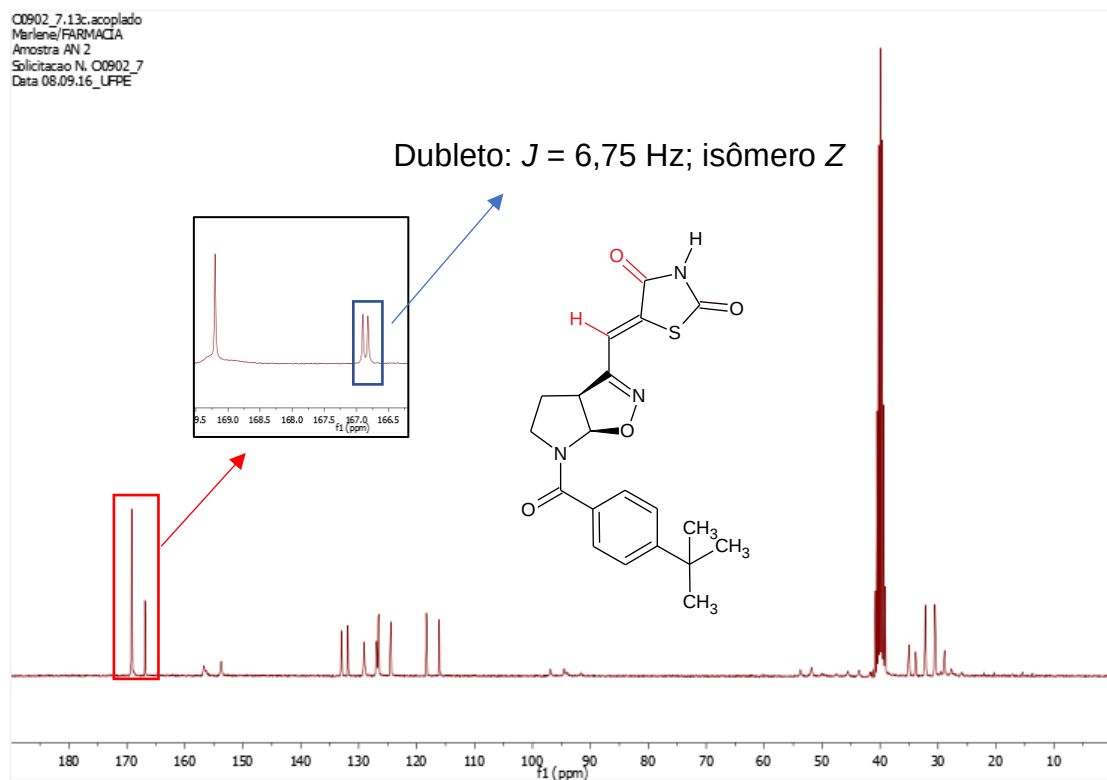


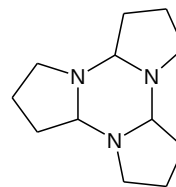
Figura 28. Espectro de RMN de ^{13}C acoplado a ^1H da molécula híbrida isoxazolina/tiazolidina-2,4-diona **56d** obtido a 27°C.

3.4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

As reações de síntese enamidas endocíclicas, cicloadição 1,3-dipolar, síntese dos álcoois isoxazolínicos e síntese dos aldeídos isoxazolínicos são sensíveis à umidade e foram realizadas sob atmosfera de argônio e com vidrarias secas em estufa por no mínimo 4 horas (120°C). Os solventes utilizados nas reações anidras também foram tratados para eliminação de água. A trietilamina e o diclorometano foram tratados com hidreto de cálcio e destilados antes do uso. O metanol e etanol foram tratados com Mg^0/I_2 e destilados antes do uso. O tetraidrofurano (THF) foi tratado com Na^0 /benzofenona e foi destilado imediatamente antes do uso. O acetato de etila e o hexano, utilizados em purificações como cromatografia em coluna *flash* e lavagens, foram previamente destilados. As análises em cromatografia de camada delgada (CCD) foram realizadas em cromatofolhas de alumínio (gel de sílica 60), contendo indicador para 254 nm. A visualização das manchas foi efetuada em lâmpada de U. V. λ 254nm e adsorção do iodo. As colunas cromatográficas foram empacotadas com gel de sílica 60 (230 – 400 mesh) e eluidas sob pressão (Flash). Os produtos sólidos tiveram seu ponto de fusão aferidos no aparelho FISATON® 431D, e, nas reações realizadas com sonicação foi utilizado o UNIQUE® USC 1400-A, com frequência 40 KHz. Os espectros de RMN de 1H e ^{13}C foram obtidos no equipamento da Varian Unity® 300 MHz e Varian Unmrs® 400 MHz. Os deslocamentos químicos são expressos em ppm, tendo como padrão interno o tetrametilsilano para RMN de 1H e os sinais designados como s – singleto, d – dubleto, dd – duplodubleto, sl – sinal largo, ft – falso tripleto e m - multipletto. Os solventes utilizados nas análises foram o DMSO- d_6 , $CDCl_3-d_1$ ou CH_3CN-d_3 . Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos utilizando o equipamento PerkinElmer® (Spectrum 400), com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de selênio e aparelhos Bruker IFS 66 (transformada de Fourier). As frequências de absorção foram expressas em cm^{-1} . Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos no Espectrômetro de Massa MALDI-TOF Autoflex III (Bruker Daltonics, Billerica, MA, USA) com laser YAG Smartbeam®, 355 nm e frequência de 100Hz.

3.4.1. Síntese do trímero da 1-pirrolina **43**

- Óleo amarelo-alaranjado viscoso
- $C_{12}H_{21}N_3$
- MM: 207,31 g/mol
- Rendimento: 78%



Uma solução aquosa 25% de persulfato de sódio (33,82 g; 142,08 mmol; 134 mL) foi adicionada lentamente a 0°C sobre uma solução aquosa de pirrolidina **42** (11,6 mL; 138,8 mmol), hidróxido de sódio (11,48 g; 287,00 mmol) e nitrato de prata (0,118 g; 0,694 mmol) em 140 mL de água destilada. Após o término da adição da solução de persulfato de sódio, a reação permaneceu em vigorosa agitação à 0°C por uma hora. Decorrido esse tempo, a mistura reacional permaneceu por mais três horas adicionais em vigorosa agitação à temperatura ambiente.

A mistura resultante foi extraída com diclorometano (3 x 120 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi removido. O rendimento médio obtido foi de 78%.

O consumo do trímero da 1-pirrolina **43** deve ser feito rapidamente. Ele não é estável, portanto não deve ser armazenado por longo tempo.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS **43**

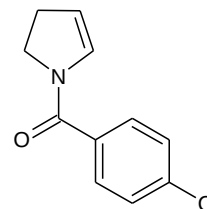
RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.).

(parte do monômero está presente, devido ao equilíbrio). 1,75 (m); 2,28 (m); 2,50 (m); 2,99 (m); 3,82(m); 7,59 (s).

3.4.2. Síntese das enamidas endocíclicas 45a-g

3.4.2.1. Síntese da *N*-(4-clorobenzoil)-2-pirrolina 45a

- Sólido branco amorfo
- $C_{11}H_{10}ClNO$
- MM: 207,65 g/mol
- Rf: 0,55 (AcOEt/hexano 3:7)
- PF: 75 - 76 °C
- Rendimento: 21%



O trímero da 1-pirrolina 43 (3,41 g; 16,8633 mmol) foi solubilizado em THF seco (150 mL) e a essa solução foi adicionada a trietilamina (5,7 mL; 33,7264 mmol). A solução resultante foi colocada no aparelho de ultrassom, a aproximadamente 60°C, por 30 minutos. Decorrido o tempo, o cloreto de *p*-clorobenzoíla 44a (4,35 mL; 33,7267 mmol) foi adicionado lentamente e após o término da adição, a mistura reacional foi deixada sob sonicação e aquecimento por duas horas adicionais. A suspensão resultante foi filtrada a vácuo e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto foi purificado em cromatografia em coluna *flash*, o eluente utilizado foi acetato de etila/hexano (1:4). A massa obtida foi 0,95 g, sendo o rendimento médio obtido de 21%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS 45a

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 400 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,70 (m; 2H); 4,00 (t; $J = 8$ Hz; 2H); 5,21 (m; 1H; rotâmero em 5,38); 6,40 (m; 1H; rotâmero em 7,06); 7,38 (d; $J = 8$ Hz; 2H); 7,45 (d; $J = 12$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 100 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

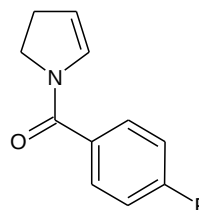
28,48 (CH_2); 45,88 (CH_2); 112,37 (CH); 128,82 (2CH); 129,33 (2CH); 130,44 (CH); 134,31 (C); 136,53 (C-Cl); 166,83 (C=O)

I.V. (ATR, cm^{-1}), principais sinais.

2.863; 1.590; 1.566; 1.423; 846; 708

3.4.2.2. Síntese da *N*-(4-fluorobenzoil)-2-pirrolina **45b**

- Óleo levemente amarelado
- $C_{11}H_{10}FNO$
- MM: 191,20 g/mol
- Rf: 0,42 (AcOEt/hexano 1:1)
- Rendimento: 24%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.2.1.

Os reagentes utilizados nessa síntese foram o trímero da 1-pirrolina **43** (3,5 g; 16,8821 mmol), trietilamina seca (3,5 mL; 25,1025 mmol), THF seco (175 mL) e cloreto de *p*-fluorobenzoíla **44b** (3,8 mL; 31,2512 mmol). A purificação foi feita por cromatografia em coluna “Flash”, o eluente utilizado foi acetato de etila/hexano (3:7). Foram obtidos 1,15 g do produto puro, com o rendimento de 24%.

- Observação: houve erro de cálculo na síntese deste produto. As quantidades corretas deveriam ser: trímero da 1-pirrolina **24a** (3,5 g; 16,8821 mmol), trietilamina seca (4,70 mL; 33,7642 mmol), THF seco (175 mL) e cloreto de *p*-fluorobenzoíla **44b** (4,10 mL; 33,7642 mmol). Portanto, o cálculo do rendimento foi realizado utilizando a TEA como agente limitante.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **45b**

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,68 (m; 2H); 3,98 (tl; $J = 8,7\text{Hz}$; 2H; rotâmero em 3,79); 5,19 (m; 1H; rotâmero em 5,36); 6,40 (m; 1H); 7,07 (m; 2H); 7,50 (m; 2H).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

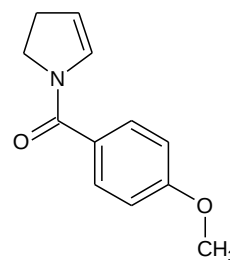
28,2 (CH_2); 45,67 (CH_2); 112,0 (CH); 115,4 (d; $J = 21,7\text{Hz}$; CH); 129,9 (d; $J = 8,7\text{Hz}$; CH); 130,3 (CH); 131,8 (C); 163,6 (d; $J = 248\text{ Hz}$; C); 165,7 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais.

3.124; 3.078; 3.055; 2.966; 2.898; 2.865; 1.606; 1.508; 1.469; 1.428; 1.368; 1.289; 1.220; 1.153; 1.095; 847; 733; 567.

3.4.2.3. Síntese da *N*-(4-metoxibenzoil)-2-pirrolina **45c**

- Óleo amarelo-alaranjado viscoso
- $C_{12}H_{13}NO_2$
- MM: 203,23 g/mol
- Rf: 0,29 (AcOEt/hexano 1:1)
- Rendimento: 24%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.2.1.

Os reagentes utilizados nessa síntese foram o trímico da 1-pirrolina **43** (3,5 g; 16,9072 mmol), trietilamina seca (4,79 mL; 34,41 mmol), THF seco (107,25 mL) e cloreto de *p*-metoxibenzoíla **44c** (7,578 mL; 33,8145 mmol). A purificação foi feita por cromatografia em coluna *flash*, o eluente utilizado foi acetato de etila/hexano (1:1). A massa obtida foi 1,67 g, sendo o rendimento médio obtido 24%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **45c**

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,68(m; 2H; rotâmero em 2,55); 3,81(s; 3H); 3,98(m; 2H); 5,16(s; 1H); 6,50(s; 1H; rotâmero em 7,14); 6,89(m; 2H); 7,47(m; 2H)

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.)

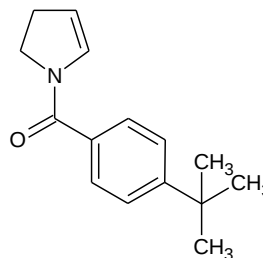
28,2(CH_2); 45,7(CH_2); 55,2(CH_3); 111,5(CH); 127,9(CH); 159,5(CH); 130,8(CH); 161,0(C); 167,0($C=O$)

I.V. – FT (janela de KBr, cm^{-1}), principais sinais.

2.957, 1.607, 1.574, 1.512, 1.404, 1.365, 1.110, 1.028, 839, 708.

3.4.2.4. Síntese da *N*-(4-*terc*-butilbenzoil)-2-pirrolina **45d**

- Cristais levemente amarelos
- $C_{15}H_{19}NO$
- MM: 229,31 g/mol
- Rf: 0,52 (AcOEt/hexano 1:1)
- Ponto de fusão 78-80°C
- Rendimento: 27%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.2.1.

Os reagentes utilizados nessa síntese foram o trímico da 1-pirrolina **43** (4,018 g; 19,8701 mmol), trietilamina seca (6,71 mL; 39,7402 mmol), THF seco (177,1 mL) e cloreto de *p-terc*-butilbenzoíla **44d** (7,97 mL; 39,7402 mmol). A purificação foi feita por cromatografia em coluna *flash*, o eluente utilizado foi acetato de etila/hexano (1,5:8,5). A massa obtida foi 2,05 g, sendo o rendimento médio obtido 27%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **45d**

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

1,28(s; 9H); 2,65(m; 2H); 3,97(tl; $J = 8,7\text{Hz}$; 2H); 5,12(m; 1H; rotâmero em 5,31); 6,47(m; 1H; rotâmero em 7,05); 7,39(m; 4H).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

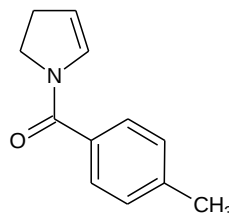
28,2(CH_2); 31,0(CH_3); 34,6(C); 45,4 (CH_2); 111,2 (CH); 125,1(CH); 127,4(CH); 130,7(CH); 132,7 (C); 153,4 (C); 166,8($C=O$).

I.V.(filme, cm^{-1}), principais sinais.

3.125; 3.045; 2.960; 2.867; 1.608; 1.413; 1.361; 996; 924; 854.

3.4.2.5. Síntese da *N*-(4-metilbenzoil)-2-pirrolina **45e**

- Sólido levemente amarelado amorfo
- $C_{12}H_{13}NO$
- MM: 187,23 g/mol
- Rf: 0,28 (AcOEt/hexano 1:1)
- Ponto de fusão 59,4 - 61 °C
- Rendimento: 12%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.2.1.

Os reagentes utilizados nessa síntese foram o trîmero da 1-pirrolina **43** (4,018 g; 19,8701 mmol), trietilamina seca (6,71 mL; 39,7402 mmol), THF seco (177,1 mL) e cloreto de *p*-metilbenzoíla **44e** (6,27 mL; 39,7402 mmol). A purificação foi feita por cromatografia em coluna *flash*, o eluente utilizado foi acetato de etila/hexano (3:7). Foram obtidos 0,94 g do produto puro, sendo o rendimento 12%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **45e**

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 400 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,37 (s; 3H); 2,69 (m; 2H); 4,00 (t; $J = 8$ Hz; 1H; sotâmero em 3,82); 5,16 (s; 1H; rotâmero em 5,34); 6,47 (s; 1H; rotâmero em 7,08); 7,20 (d; $J = 8$ Hz; 2H); 7,40 (d; $J = 4$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 100 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

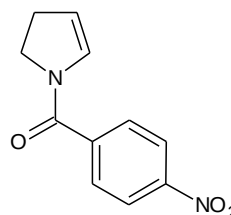
21,52 (CH_3); 28,46 (CH_2); 45,77 (CH_2); 111,44 (CH); 127,88 (CH); 129,09 (4CH); 130,99 (C); 140,61 (C); 167,14 (C=O)

I.V.(ATR, cm $^{-1}$), principais sinais.

2.856; 1.602; 1.567; 1.412; 1.366; 828

3.4.2.6. Síntese da *N*-(4-nitrobenzoil)-2-pirrolina **45f**

- Cristais amarelos
- $C_{11}H_{10}N_2O_3$
- MM: 218,20 g/mol
- Rf: 0,34 (AcOEt/hexano 1:1)
- Ponto de fusão 148-153°C
- Rendimento: 16%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.2.1.

Os reagentes utilizados nessa síntese foram o trímico da 1-pirrolina **43** (3,26 g; 15,7408 mmol), trietilamina seca (4,27 mL; 30,6102 mmol), THF seco (100 mL) e cloreto de *p*-nitrobenzoíla **44f** (2,914 g; 15,7402 mmol). A purificação foi feita por cromatografia em coluna *flash*, o eluente utilizado foi acetato de etila/hexano (3:7). A massa obtida foi 0,6 g, sendo rendimento médio obtido 16%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **45f**

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,76 (m; 2H; rotâmero em 2,64); 4,06(m; 2H; rotâmero em 3,79); 5,31 (m; 1H; rotâmero em 5,48); 6,34 (m; 1H; rotâmero 7,06); 7,70 (m, 2H); 8,29 (m, 2H).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

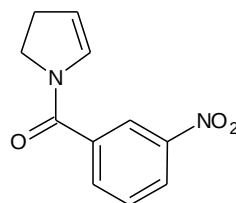
28,4(CH_2); 45,8(CH_2); 123,8(CH; rotâmero em 123); 128,8(CH; rotâmero em 128,3); 129,5 (CH); 141,6 (C); 164,4(C=O).

I.V.(filme, cm^{-1}), principais sinais.

3.100; 2.968; 2.862; 1.595; 1.512; 1.427; 1.353; 1.316; 860.

3.4.2.7. Síntese da *N*-(3-nitrobenzoil)-2-pirrolina **45g**

- Cristais amarelo-alaranjados
- $C_{11}H_{10}N_2O_3$
- MM: 218,20 g/mol
- Rf: 0,32 (AcOEt/hexano 1:1)
- Faixa de Fusão 104 – 106°C.
- Rendimento: 9%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.2.1.

Os reagentes utilizados nessa síntese foram o trímico da 1-pirrolina **43** (3,09 g; 15,2808 mmol), trietilamina seca (5,16 mL; 30,5614 mmol), THF seco (136,19 mL) e cloreto de *m*-nitrobenzoíla **44g** (5,757 g; 30,5616 mmol). A purificação foi feita por cromatografia em coluna *flash*, o eluente utilizado foi acetato de etila/hexano (3:7). A massa obtida foi 0,4 g, sendo o rendimento médio 9%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **45g**

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,73(m; 2H; rotâmero em 2,62); 4,03(m; 2H; rotâmero em 3,82); 5,29(s; 1H; rotâmero em 5,44); 6,36(s; 1H; rotâmero em 7,06); 7,62(t; $J = 8,0$ Hz; 2H); 7,84(dl; 1H) 8,29(dl; 1H); 8,35 (s; 1H)

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.)

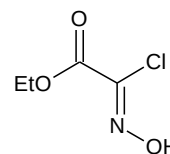
28,3(CH_2); 45,8(CH_2); 113,5(CH); 122,7(CH); 124,9(CH); 129,5(CH); 129,7(CH); 133,6(CH); 137,2(C); 147,2(C); 163,97(C=O)

I.V. – FT (pastilha de KBr, cm^{-1}), principais sinais.

3.093; 2.957; 2.864; 1.635; 1.609; 1.531; 1.442; 1.348; 1.301; 718.

3.4.3. Síntese do clorooximidoacetato de etila 47 (precursor do CEFNO)

- Cristais brancos
- $C_4H_6ClNO_3$
- MM: 151,54 g/mol
- Ponto de Fusão: 80°C
- Rendimento: 39%

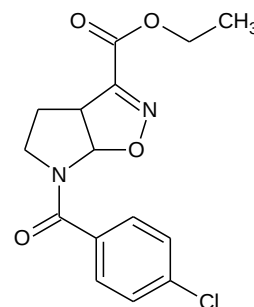


O cloridrato da glicina esterificada 46 (20 g; 0,1432 mol), obtido comercialmente, é dissolvido em água (30 mL) e são adicionados ácido clorídrico concentrado (24,78 mL; 0,8011 mol) e uma solução aquosa de nitrito de sódio (20 g; 0,2898 mol, 35mL de água). A adição do ácido e do $NaNO_2$ é feita da seguinte forma: metade do ácido é adicionada e em seguida metade da solução de nitrito de sódio. Lentamente após a primeira adição, a outra metade de solução de HCl e da solução de $NaNO_2$ foram adicionadas nas mesmas condições. A adição do HCl e do $NaNO_2$ é feita a 0°C. Depois de adicionada a última parte do $NaNO_2$ a reação permanece em vigorosa agitação à 0°C por 20 minutos adicionais. A solução resultante foi extraída com CH_2Cl_2 (4 x 50 mL) e a fase orgânica foi seca sobre Na_2SO_4 anidro. O solvente foi removido e à solução resultante foi adicionado hexano resfriado. Na adição do hexano ocorreu a precipitação dos cristais brancos, o clorooximidoacetato de etila 47. A massa obtida foi de 8,46 g, correspondendo a um rendimento de 39 %.

3.4.4. Cicloadição 1,3-dipolar das Enamidas endocíclicas **45a-g** com o óxido de carboetoxiformonitrila (CEFNO) **47a**.

3.4.4.1. Síntese do éster etílico do ácido 6-(4-clorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carboxílico **48a**

- Sólido branco amorfo levemente amarelado
- $C_{15}H_{15}ClN_2O_4$
- MM: 322,74 g/mol
- Rf: 0,38 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 102 – 104 °C
- Rendimento: 66%



Primeiramente a enamida **45a** (0,9509 g; 4,5791 mmol) é solubilizada em THF (14,9 mL) e a essa solução, a TEA foi adicionada (0,79 mL; 5,6740 mmol). Separadamente, foi feita uma solução em THF do clorooximidoacetato de etila **47** (0,7693 g; 5,0768 mmol; 5,5 mL de THF) que, foi adicionada lentamente, via seringa, na solução reacional. Após o término da adição do clorooximidoacetato de etila **47**, a reação permaneceu em agitação vigorosa por mais 30 minutos. Vale salientar que a reação acontece em atmosfera de argônio e todas as vidrarias foram previamente secas por 4 horas. O término da reação foi verificado por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Decorrido o tempo, a mistura reacional foi filtrada em funil sinterizado para filtrar o sal cloreto de trietilamônio, que precipita no meio reacional. Após a remoção do solvente, um líquido viscoso amarelo foi obtido. Este líquido foi purificado por Cromatografia em Coluna *flash*, utilizando uma mistura de solventes como eluente, acetato de etila/hexano (1:5). A massa obtida foi 1,36 g, correspondendo a um rendimento médio de 66 %.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **48a**

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

1,36 (t; $J = 7,0\text{Hz}$; 3H); 2,19 (ml; 1H); 2,37 (dd; $J = 5,9\text{Hz}$; $J = 12,9\text{Hz}$; 1H); 3,17 (sl; 1H); 4,07 (m; 1H); 4,35 (m; 3H); 6,16 (sl; 1H; rotâmero em 6,97); 7,4 (dl; $J = 8,4\text{Hz}$; 2H); 7,6(ml;2H)

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

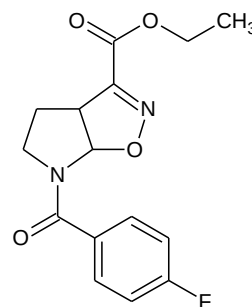
14,0 (CH₃); 27,8 (CH₂); 43,5 (CH₂); 51,1 (CH); 62,3 (CH₂); 95,8 (CH); 128,6 (CH); 129,5 (CH); 133,1 (C); 137,0 (C); 152,2 (C); 159,7 (C=O); 168,5 (C=O).

I.V.(filme, cm⁻¹), principaux sinais.

2.985; 1.724; 1.650; 1.591; 1.408; 1.270; 1.180; 1.132; 1.015; 931; 836; 756.

3.4.4.2. Síntese do éster etílico do ácido 6-(4-fluorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carboxílico **48b**

- Sólido branco amorfo levemente amarelado
- $C_{15}H_{15}FN_2O_4$
- MM: 306,28 g/mol
- Rf: 0,39 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 83 – 84 °C
- Rendimento: 38%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.4.1.

Os reagentes utilizados foram a enamida endocíclica **45b** (1,15 g; 6,0271 mmol); THF seco (10,1 mL); TEA (1,1 mL; 7,8893 mmol); Clorooxiimidoacetato de etila **47** (1,05 g; 9,8984 mmol; THF 6,7 mL). A purificação do cicloaduto **48b** foi feita por meio de uma cromatografia em coluna *flash* com o sistema eluente isopropanol/hexano (1:9). A massa obtida foi 0,67 g, correspondendo a um rendimento médio de 38 %.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 48b

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

1,38 (t; $J = 7,0\text{Hz}$; 3H); 2,22 (ml; 1H); 2,40 (dd; $J = 6,0\text{Hz}$; $J = 13,5\text{Hz}$; 1H); 3,20 (ml; 1H); 4,12 (t; $J = 8,0\text{Hz}$; 1H); 4,36 (m; 3H); 6,22 (sl; 1H); 7,12 (m; 2H); 7,69 (sl; 2H)

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

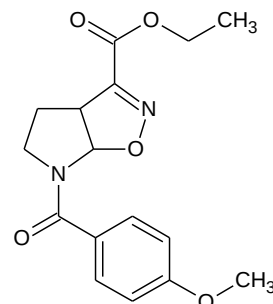
14,08 (CH_3); 27,95 (CH_2); 43,53 (CH_2); 51,19 (CH); 62,4 (CH_2); 96,17 (CH); 115,6 (d; $J = 21,5\text{Hz}$; CH); 130,4 (CH); 164,1 (d; $J = 250,0\text{Hz}$; C-F); 131,0 (C); 152,4 (C); 159,8 (C=O); 168,7 (C=O).

I.V.(filme, cm^{-1}), principais sinais.

3.030; 2.986; 2.860; 1.721; 1.652; 1.600; 1.509; 1.408; 1.270; 1.131; 931; 853.

3.4.4.3. Síntese do éster etílico do ácido 6-(4-metoxibenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrólo[3,2-d]isoxazol-3-carboxílico **48c**

- Óleo levemente amarelado viscoso
- $C_{16}H_{18}N_2O_5$
- MM: 318,32 g/mol
- Rf: 0,32 (AcOEt/hexano 1:1)
- Rendimento: 66%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.4.1.

Os reagentes utilizados foram a enamida endocíclica **45c** (1,67 g; 8,2528 mmol); THF seco (26,9 mL); TEA (1,42 mL; 10,2262 mmol); Clorooxiimidoacetato de etila **47** (1,38 g; 9,1498 mmol; THF 10 mL). A purificação do cicloaduto **48c** foi feita por meio de uma cromatografia em coluna *flash* com o sistema eluente acetato de etila/hexano (1:1). A massa obtida foi 1,64 g, correspondendo a um rendimento médio de 66%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 48c

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.).

1,38 (t; $J = 7,1\text{Hz}$; 3H); 2,19 (m; 1H); 2,35 (dd; $J = 6,0\text{Hz}$; $J = 13,3\text{Hz}$; 1H); 3,22 (sl; 1H); 4,08 (t; $J = 8,4\text{Hz}$; 1H); 4,36 (m; 3H); 6,35 (sl; 1H); 6,93 (d; $J = 9,0\text{Hz}$; 2H); 7,64 (sl; 2H).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.).

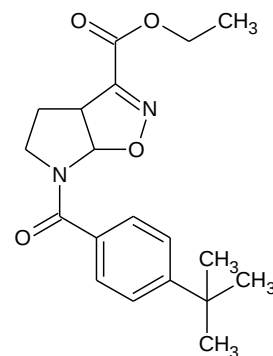
14,1 (CH_3); 28,1 (CH_2); 43,25 (CH_2); 50,9 (CH); 55,4 (CH_3); 62,3 (CH_2); 96,3 (CH); 113,6 (CH); 126,0 (C); 130,1 (CH); 152,4 (C); 159,9 (C-O); 161,7 (C=O); 169,3 (C=O).

I.V. – FT (janela de KBr, cm^{-1}), principais sinais.

2.998, 1.722, 1.645, 1.607, 1.513, 1.393, 1.257, 1.174, 1.128, 1.027, 932, 847.

3.4.4.4. Síntese do éster etílico do ácido 6-(4-*tert*-butilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3a*H*-pirrolo[3,2-*d*]isoxazol-3-carboxílico **48d**

- Oléo viscoso levemente amarelado
- C₁₉H₂₄N₂O₄
- MM: 344,40 g/mol
- R_f: 0,5 (AcOEt/hexano 1:1)
- Rendimento: 58%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.4.1.

Os reagentes utilizados foram a enamida endocíclica **45d** (2,06 g; 8,8977 mmol); THF seco (29,8 mL); TEA (1,55 mL; 11,1299 mmol); clorooxiimidoacetato de etila **47** (1,51 g; 9,9590 mmol; THF 10,8 mL). A purificação do cicloaduto **48d** foi feita por meio de uma cromatografia em coluna *flash* com o sistema eluente isopropanol/hexano (0,5:9,5). A massa obtida foi 1,20 g, correspondendo a um rendimento médio de 58%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **48d**

RMN de ¹H (CDCl₃, δ, ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

1,30 (s; 9H); 1,36 (t; *J* = 7,2Hz; 3H); 2,18(m; 1H); 2,34 (dd; *J* = 6,1Hz; *J* = 13,2Hz; 1H)
3,16 (sl; 1H); 4,08 (m; 2H); 4,35 (m; 2H); 4,45 (sl; 1H) 6,25 (sl; 1H; rotâmero em 6,89);
7,43 (m; 2H); 7,59 (ml; 2H)

RMN de ¹³C (CDCl₃, δ, ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

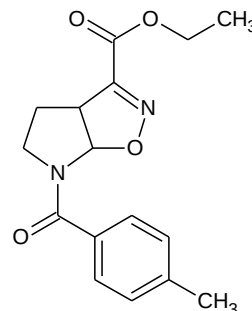
14,00 (CH₃); 27,9 (CH₂); 31,5 (CH₃); 34,8 (CH₂); 40,5 (C); 50,78 (CH); 62,26 (CH₂);
96,18 (CH); 125,3 (CH); 127,87 (2CH); 131,8 (C); 152,3 (C); 154,26 (C); 159,6 (C=O);
169,66 (C=O)

I.V. (filme, cm⁻¹), principais sinais.

2.923; 1.722; 1.651; 1.613; 1.587; 1.405; 1.270; 1.019; 853.

3.4.4.5. Síntese do éster etílico do ácido 6-(4-metilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carboxílico **48e**

- Óleo levemente amarelado
- $C_{16}H_{18}N_2O_4$
- MM: 302,32 g/mol
- Rf: 0,21 (AcOEt/hexano 1:1)
- Rendimento: 55%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.4.1.

Os reagentes utilizados foram a enamida endocíclica **45e** (0,94 g; 5,01 mmol); THF seco (16,3 mL); TEA (0,86 mL; 6,2068 mmol); clorooxiimidoacetato de etila **47** (0,84 g; 5,5541 mmol; THF 6,06 mL). A purificação do cicloaduto **48e** foi feita por meio de uma cromatografia em coluna “flash” com o sistema eluente isopropanol/hexano com aumento progressivo da polaridade (1:9 / 1,5:8,5 / 3:7). A massa obtida foi 0,83 g, correspondendo a um rendimento médio de 55%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 48e

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 400 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

1,39 (t; $J = 7,6\text{Hz}$; 3H); 2,2 (m; 1H); 2,39 (s; 3H); 3,19 (sl; 1H); 4,07 (t; $J = 8,4\text{Hz}$; 1H); 4,38 (m; 2H); 6,24 (sl; 1H); 7,24 (d; $J = 8,4\text{Hz}$; 2H); 7,57 (sl; 2H)

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 100 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

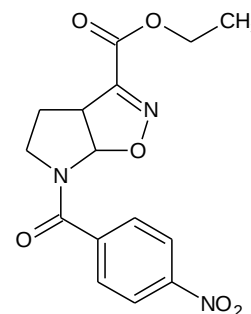
14,03 (CH_3); 21,40 (CH_3); 28,04 (CH_2); 43,12 (CH_2); 50,89 (CH); 62,29 (CH_2); 96,31 (C-O); 128,06 (C); 129,01 (C); 131,92 (C); 141,26 (C); 152,25 (C=N); 159,94 (C=O); 169,74 (C=O).

I.V. - ATR (cm^{-1}), principais sinais.

2.983, 1.718, 1.645, 1.381, 1.266; 1.777; 1.124, 1.016, 928, 830

3.4.4.6. Síntese do éster etílico do ácido 6-(4-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carboxílico **48f**

- Sólido branco cristalino
- $C_{15}H_{15}N_3O_6$
- MM: 333,29 g/mol
- Rf: 0,35 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 110°C
- Rendimento: 44%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.4.1.

Os reagentes utilizados foram a enamida endocíclica **45f** (0,448 g; 2,0539 mmol); THF seco (10,9 mL); TEA (0,36 mL; 2,6164 mmol); clorooxiimidoacetato de etila **47** (0,36 g; 2,3615 mmol; THF 1,0 mL). A purificação do cicloaduto **48f** foi feita por meio de uma cromatografia em coluna *flash* com o sistema eluente acetato de etila/hexano (4:6). A massa obtida foi 0,30 g, correspondendo a um rendimento médio de 44%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **48f**

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

1,36 (t; $J = 7,2\text{Hz}$; 3H); 2,24 (m; 1H); 2,42 (dd; $J = 6,1\text{Hz}$; $J = 13,3\text{Hz}$; 1H); 3,21 (m; 1H); 4,13 (m; 1H); 4,35 (m; 3H); 6,07 (d; $J = 7,8\text{Hz}$; rotâmero em 6,91); 7,83 (dl; $J = 7,8\text{Hz}$; 2H); 8,28 (d; $J = 8,7\text{ Hz}$; 2H)

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros. 13,9 (CH_3); 27,6 (CH_2); 43,5 (CH_2); 51,4 (CH); 62,4 (CH_2); 95,3 (CH); 123,7 (CH); 129,0 (CH); 140,6 (C); 148,9 (C); 152,4 (C); 159,6 (C=O); 167,5 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais.

2.970; 1.722; 1.652; 1.600; 1.524; 1.414; 1.350; 1.272; 1.130; 829.

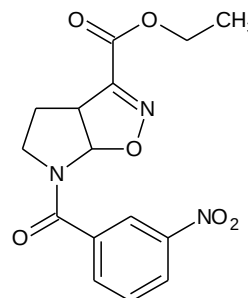
E.M. – Alta Resolução (m/z), calculado 333,09609, encontrado 333,09763.

Principais sinais.

59.0484 (100%); 76.03306; 101.06232; 120.04708; 150.02432; 150.02432; 218.06591; 234.06628; 316.09288; 333.09763 (M^+).

3.4.4.7. Síntese do éster etílico do ácido 6-(3-nitrobenzoi)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirroló[3,2-d]isoxazol-3-carboxílico **48g**

- Óleo amarelo-alaranjado
- $C_{15}H_{15}N_3O_6$
- MM: 333,29 g/mol
- Rf: 0,31 (AcOEt/hexano 1:1)
- Rendimento: 79%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.4.1.

Os reagentes utilizados foram a enamida endocíclica **45g** (1,148 g; 5,2612 mmol); THF seco (17,3 mL); TEA (0,92 mL; 6,5805 mmol); clorooxiimidoacetato de etila **47** (0,9 g; 5,8881 mmol; THF 2,5 mL). A purificação do cicloaduto **48g** foi feita por meio de uma cromatografia em coluna *flash* com o sistema eluente acetato de etila/hexano (1:1). A massa obtida foi 1,36 g, correspondendo a um rendimento médio de 79%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 48g

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

1,36 (t; $J = 7,0\text{Hz}$; 3H); 2,25 (m; 1H); 2,43 (dd; $J = 5,7\text{Hz}$; $J = 13,2\text{Hz}$; 1H); 3,23 (m; 1H; rotâmero em 3,54); 4,15 (t; $J = 8,1\text{Hz}$; 1H); 4,35 (m; 3H); 6,13 (d; $J = 5,4\text{Hz}$; 1H; rotâmero em 6,91); 7,65 (t; $J = 8,0\text{Hz}$; 1H); 7,99 (sl; 1H); 8,30 (d; $J = 8,4\text{Hz}$; 1H); 8,49 (sl; 1H).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

13,95 (CH_3); 27,54 (CH_2); 43,63 (CH_2); 51,45 (CH); 62,4 (CH_2); 95,4 (CH); 123,12 (CH); 125,4 (CH); 129,73 (CH); 133,8 (CH); 136,42 (C); 147,94 (C); 152,4 (C-N); 159,6 (C=O); 167,15 (C=O).

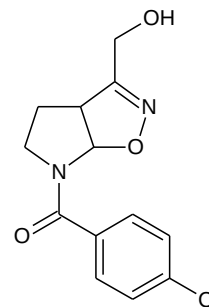
I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais.

2.934, 1.725, 1.657, 1.587, 1.532, 1.478, 1.439, 1.403, 1.350, 1.269, 922, 880.

3.4.5. Síntese dos álcoois isoxazolínicos 49a-g

3.4.5.1. Síntese do álcool (4-clorofenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidropirrolo[3,2-d]isoxazol-6-il-metanona 49a

- Óleo incolor viscoso
- $C_{13}H_{13}ClN_2O_3$
- MM: 280,70 g/mol
- Rf: 0,11 (AcOEt/hexano 1:1)
- Rendimento: 65%



A uma solução do éster isoxazolínico 48a (1,32 g; 4,0973 mmol) em metanol seco (110 mL) à 0°C, foi adicionado um equivalente por vez do borohidreto de sódio (0,46 g; 12,2919 mmol; 3 eq). Decorrida uma hora da adição do primeiro equivalente, o banho de gelo foi retirado e a reação permaneceu sob vigorosa agitação por mais uma hora, em temperatura ambiente. O término da reação foi acompanhado por CCD. Após o fim da reação, o solvente foi removido. O produto bruto foi solubilizado em acetato de etila (15 mL) e então foi feita extração utilizando acetato de etila (3 x 9 mL) e água destilada (9 mL). A fase orgânica foi seca sob sulfato de sódio anidro. Após a remoção do acetato de etila um óleo amarelo foi obtido. A purificação do álcool 49a foi feita por coluna cromatográfica *flash*, utilizando como eluente um sistema gradiente de acetato de etila/hexano (1:1 / 8:2). A massa obtida foi 1,08 g, correspondendo a um rendimento médio de 65%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 49a

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros. 2,00 – 2,20 (m, 1H); 2,30 (dd, $J = 13$ Hz; $J = 5,7$ Hz; 1H); 2,90 – 3,65 (m, 2H); 4,00 (m, 1H); 4,35 (d; $J = 14,1$ Hz; 1H); 4,44 (d; $J = 14,1$; 1H); 5,97 (d; $J = 7,0$ Hz; 1H) rotâmero em 6,72; 7,40 (d; $J = 8,1$ Hz, 2H); 7,64 (dl; $J = 8,0$ Hz, 2H).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.)

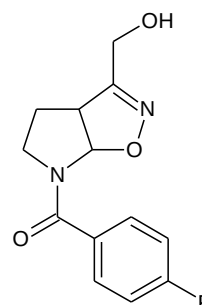
26,7 (CH_2); 43,4 (CH_2) rotâmero em 47; 52,6 (CH); 56,8 (CH_2); 93,3 (CH) rotâmero em 91; 128,6 (CH); 129,6 (CH); 133,3 (C); 136,9 (C); 158,9 (C=N); 169,1 (C=O).

I.V. - FT (janela de KBr, cm^{-1}), principais sinais.

3508, 3080, 2970, 2888, 1632, 159, 1505, 1420, 1215, 848.

3.4.5.2. Síntese do álcool (4-fluorofenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidropirrólo[3,2-d]isoxazol-6-il-metanona **49b**

- Óleo incolor viscoso.
- $C_{13}H_{13}FN_2O_3$
- MM: 264,25 g/mol
- Rf: 0,10 (AcOEt/hexano 1:1)
- Rendimento: 96%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.5.1.

Os reagentes utilizados foram o éster isoxazolinico **48b** (0,85 g; 2,7637 mmol); metanol seco (74 mL); borohidreto de sódio (0,314 g; 8,2911 mmol; 3 eq). A purificação do álcool **49b** foi feita por meio de uma cromatografia em coluna *flash* com o sistema eluente gradiente de acetato de etila/hexano (1:1 / 8:2). A massa obtida foi 0,69 g, correspondendo a um rendimento médio de 96%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS **29b**

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,06 (m, 1H); 2,27 (dd; $J = 12,6$; $J = 5,7$ Hz; 1H); 3,00 (m, 1H) rotâmero em 3,40; 4,00 – 4,20 (m, 2H); 4,24 (m, 2H); 5,39 (t; $J = 6,0$ Hz; 1H OH); 6,03 (d; $J = 7,5$ Hz; 1H); rotâmero em 6,53; 7,33 (m; 2H); 7,67 (m; 2H).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

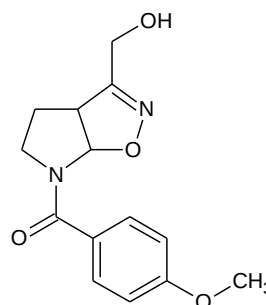
25,9 (CH_2) rotâmero 27,3; 43,5 (CH_2) rotâmero 47,4; 52,8 (CH) rotâmero 50,8; 55,2 (CH_2); 92,7 (CH) rotâmero 90,1; 115,3 (d; $J = 21,0$ Hz; CH); 130,3 (CH); 132,1 (C); 159,9 (C=N); 164,7 e 161,5 (d; $J = 240$ Hz, C); 167,9 (C=O);

I.V. - FT (janela de KBr, cm^{-1}), principais sinais.

3506, 3052, 2970, 2884, 1639, 1597, 1500, 1415, 1210, 1153, 845

3.4.5.3. Síntese do álcool (4-metóxfenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidropirrolo[3,2-d]isoxazol-6-il-metanona **49c**

- Sólido branco amorfo
- $C_{14}H_{16}N_2O_4$
- MM: 276,28 g/mol
- R_f: 0,19 (AcOEt/hexano 9:1)
- PF: 149 °C
- Rendimento: 87%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.5.1.

Os reagentes utilizados foram o éster isoxazolíico **48c** (2,4g; 6,9436 mmol); metanol seco (186 mL); borohidreto de sódio (0,8 g; 20,8287 mmol; 3 eq.). A purificação do álcool **49c** foi feita por meio de uma filtração em sílica (5 cm de altura de sílica na coluna) com o sistema eluente gradiente de acetato de etila/hexano (1:1 / 8:2). A massa obtida foi 1,50 g, correspondendo a um rendimento médio de 87%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **49c**

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,05 (m, 1H); 2,26 (dd, $J = 13,2\text{Hz}$, $J = 5,6\text{Hz}$, 1H); 3,22 (sl, 1H) rotâmero em 3,34; 3,81 (s, 3H); 3,96 (t, $J = 8\text{Hz}$, 1H); 4,34 (d, $J = 14,4\text{Hz}$, 2H); 4,43 (d, $J = 14\text{Hz}$, 2H); 6,05 (sl, 1H); 6,90 (d, $J = 8,4\text{Hz}$, 2H); 7,64 (sl, 2H)

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

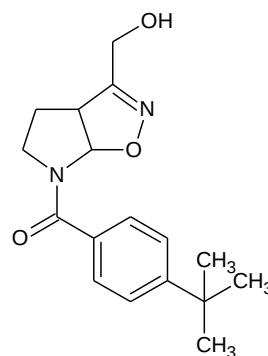
26,91 (CH_2); 43,36 (CH_2); 52,45 (CH); 55,32 (CH_3); 56,83 (CH_2); 60,37 (CH); 93,69 (CH); 113,57 (C); 127,06 (C); 130,11 (CH); 158,90 (C); 161,57 (C=N); 169,77 (C=O).

I.V. - ATR (cm^{-1}), principais sinais.

3.374; 2.940; 2.881; 2.841; 1.604; 1.513; 1.393; 1.251; 1.172; 1.025; 925; 840

3.4.5.4. Síntese do álcool (4-*terc*-butilfenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidro-pirrolo[3,2-d]isoxazol-6-il-metanona **49d**

- Sólido branco amorfo
- $C_{17}H_{22}N_2O_3$
- MM: 306,36 g/mol
- Rf: 0,25 (AcOEt/hexano 9:1)
- PF: 152°C
- Rendimento: 86%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.5.1.

Os reagentes utilizados foram o cicloaduto **48d** (3,41 g; 9,9124 mmol); metanol seco (266 mL); borohidreto de sódio (1,13 g; 29,9644 mmol; 3 eq.). A purificação do álcool **49d** foi feita por meio de uma cromatografia em coluna *flash* com o sistema eluente de polaridade crescente de acetato de etila/hexano (4:6 / 7:3). A massa obtida foi 2,40 g, correspondendo a um rendimento médio de 86%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **49d**

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 400 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

1,31 (s, 9H); 2,07 (m, 1H); 2,27 (dd, $J = 13,2\text{Hz}$, $J = 6\text{Hz}$, 1H); 2,87 (sl, 2H); 3,13 (sl, 1H); 3,95 (sl, 1H); 4,36 (d, $J = 13,6\text{Hz}$, 1H); 4,46 (d, $J = 14,4\text{ Hz}$, 1H); 6,06 (sl, 1H) rotâmero em 6,75; 7,43 (d, $J = 8\text{Hz}$, 2H); 4,61 (sl, 2H)

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 100 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

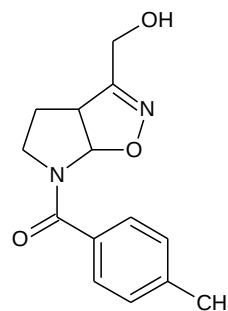
26,92 (CH_2); 31,11 (CH_3); 34,84 (C); 43,25 (CH_2); 52,43 (CH); 56,96 (CH_2); 93,68 (CH); 125,25 (CH); 128,00 (CH); 132,06 (C); 154,14 (C); 158,81 (C=N); 170,20 (C=O)

I.V. - ATR (cm^{-1}), principais sinais.

3.301; 2.960; 2.906; 1.613; 1.560; 1.427; 1.628; 1.150; 1.039; 967; 846

3.4.5.5. Síntese do álcool (4-metilfenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidropirrolo[3,2-d]isoxazol-6-il-metanona **49e**

- Óleo levemente amarelado viscoso
- $C_{14}H_{16}N_2O_3$
- MM: 260,28 g/mol
- Rf: 0,21 (AcOEt/hexano 9:1)
- Rendimento: 72%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.5.1.

Os reagentes utilizados foram o cicloaduto **48e** (0,83 g; 2,7486 mmol); metanol seco (73,8 mL); borohidreto de sódio (0,312 g; 8,3458 mmol; 3 eq;). A purificação do álcool **49e** foi feita por meio de uma cromatografia em coluna *flash* com o sistema eluente isopropanol/hexano (2:8). A massa obtida foi 0,51 g, correspondendo a um rendimento médio de 72%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **49d**

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 400 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,06 (m, 2H); 2,26 (dd, $J = 13,2\text{Hz}$, $J = 4,8\text{Hz}$, 1H); 2,36 (s, 3H); 3,12 (sl, 1H); 4,00 (m, 2H); 4,34 (d, $J = 14\text{Hz}$, 2H); 4,44 (d, $J = 1,6\text{Hz}$, 2H); 6,01 (sl, 1H); 7,21 (d, $J = 8\text{Hz}$, 2H); 7,56 (sl, 2H)

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 100 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

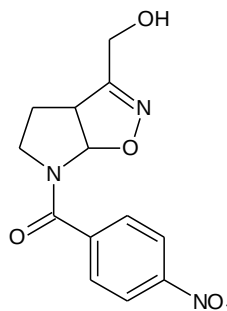
25,21 (CH_3); 26,83 (CH_2); 43,26 (CH_2); 53,44 (CH); 56,88 (CH_2); 64,40 (CH); 93,63 (CH); 128,15 (CH); 128,94 (CH); 132,12 (C); 141,07 (C); 158,84 (C=N); 170,22 (C=O)

I.V. - ATR (cm^{-1}), principais sinais.

3.380; 2.955; 2.880; 1.611; 1.569; 1.411; 1.266; 1.138; 926; 847

3.4.5.6. Síntese do álcool (4-nitrofenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidropirrolo[3,2-d]isoxazol-6-il-metanona **49f**

- Sólido amarelo
- $C_{13}H_{13}N_3O_5$
- MM: 291,25 g/mol
- Rf: 0,20 (AcOEt/hexano 9:1)
- PF: 106°C
- Rendimento: 73%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.5.1.

Os reagentes utilizados foram o cicloaduto **48f** (0,574 g; 1,7239 mmol); metanol seco (46,3 mL); borohidreto de sódio (0,195 g; 5,1717 mmol; 3 eq;). A purificação do álcool **49f** foi feita por meio de uma cromatografia em coluna *flash* com o sistema eluente de polaridade crescente de acetato de etila/hexano (1:1 / 8:2). A massa obtida foi 0,36 g, correspondendo a um rendimento de 73%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **49f**

RMN de 1H (300 MHz; DMSO- D_6 ; ppm; J (Hz)) δ , t.a, presença de rotâmeros.

2,23 (m, 2H); 3,08 (m; 1H); 3,70 (m; 1H); 4,24 (m, 1H); 4,28 (sl, 1H); 5,16 (s; 1H; rotâmero em 5,14); 6,40 (d; $J = 7,8$; 1H); 7,38 (m, 4H).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- D_6 , ppm)- DEPT δ , t.a.

26,9 (CH_2 ; rotâmero em 27,7); 44,2 (CH_2), 50,8 (CH; rotâmero em 49,7); 94,2 (CH; rotâmero em 95,0); 128,4; 127,9; 127,7; 127,5 (dois CH com rotâmeros); 136,4 (C); 152,5 (C); 152,6 (C=N; rotâmero em 153,3); 159,4 (C=O).

I.V.-F.T. (Pastilha de KBr, cm^{-1}) principais sinais.

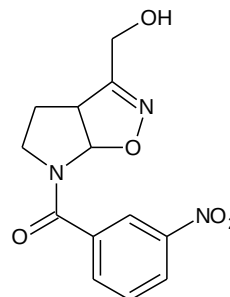
3406; 3108; 3077; 2954; 1639; 1599; 1523; 1424; 1350; 843.

HRMS - ES- IT- TOF; $M^+ + 1$

Calculado: 292,0927; Encontrado: 292,0909.

3.4.5.7. Síntese do álcool (3-nitrofenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidropirrolo[3,2-d]isoxazol-6-il-metanona **49g**

- Óleo amarelo-alaranjado
- $C_{13}H_{13}N_3O_5$
- MM: 291,25 g/mol
- Rf: 0,16 (AcOEt/hexano 9:1)
- Rendimento: 62%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.5.1.

Os reagentes utilizados foram o cicloaduto **48g** (1,367 g; 4,1027 mmol); metanol seco (110 mL); borohidreto de sódio (0,466 g; 12,3075 mmol; 3 eq;). A purificação do álcool **49g** foi feita por meio de uma cromatografia em coluna *flash* com o sistema eluente acetato de etila/hexano (1:1). A massa obtida foi 0,74 g, correspondendo a um rendimento de 62%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **49g**

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 400 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,16 (m; 1H); 2,35 (m; 1H); 2,80 (sl; 1H); 3,22 (m; 1H; rotâmero em 3,52); 4,09 (m; 1H); 4,45 (m; 3H); 5,97 (d; $J = 8$ Hz; 1H; rotâmero em 6,68); 7,64 (t; $J = 8$ Hz; 1H); 8,03 (d; $J = 4$ Hz; 1H; rotâmero em 7,89); 8,30 (d; $J = 8$ Hz; 1H); 8,51 (s; 1H; rotâmero em 8,36)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 100 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

26,71 (CH_2 ; rotâmero em 28,10); 43,95 (CH_2 ; rotâmero em 47,70); 53,14 (CH; rotâmero em 51,35); 56,97 (CH_2); 93,17 (CH; rotâmero em 90,99); 123,35 (CH); 125,44 (CH); 129,86 (CH); 134,20 (CH); 136,86 (C); 148,07 (C- NO_2); 159,11 (C); 167,76 (C=O)

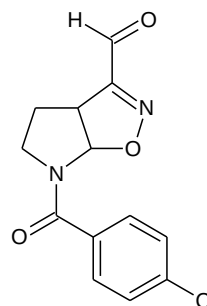
IV - FT (ATR, cm^{-1}), principais sinais.

3.393; 3.090; 2.874; 1.616; 1.527; 1.343; 712

3.4.6. Síntese dos aldeídos isoxazolínicos **52a-g**

3.4.6.1. Síntese do 6-(4-clorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carbaldeído **52a**

- Sólido amorfo amarelo claro
- $C_{13}H_{11}ClN_2O_3$
- MM: 278,69 g/mol
- Rf: 0,43 (AcOEt/hexano 2:3)
- Ponto de fusão: 124 °C
- Rendimento: 95%



O cloreto de oxalila **50** (0,246 mL; 2,8779 mmol) foi solubilizado em um balão de fundo redondo com diclorometano seco (5,2 mL) em atmosfera de argônio e À -70 °C. Após estabilização da temperatura é adicionada de uma só vez a solução de DMSO **51** (0,411 mL; 5,7783 mmol) em 1,23 mL de CH_2Cl_2 , preparada previamente. Após 2 minutos, a solução do álcool isoxazolínicos **49a** (0,648 g; 2,3247 mmol; CH_2Cl_2 1,44 mL) foi adicionada gota a gota durante 5 minutos. Após a adição do álcool **49a** a reação foi mantida sob agitação por 15 minutos e em seguida foi adicionada a trietilamina (1,64 mL; 11,6972 mmol). Após 5 minutos da adição da TEA o término da reação foi verificado por CCD. Por fim, água destilada foi adicionada ao meio reacional e extração com CH_2Cl_2 (3 x 10 mL) foi realizada. Após secagem da fase orgânica com sulfato de sódio anidro e remoção do solvente, o produto bruto foi purificado através de uma filtração em sílica (5 cm de altura de sílica na coluna) com o sistema eluente acetato de etila/hexano (4:6). O rendimento obtido foi 95%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **52a**

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,00 – 2,40 (m, 2H); 3,07 (m, 1H) rotâmero em 3,94; 4,16 (m, 2H); 6,30 (d; $J = 6,6$ Hz; 1 H) rotâmero em 6,81; 7,61 (sl; 4H); 9,81 (s, 1H).

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

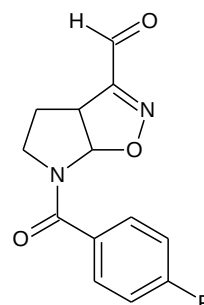
26,2 (CH_2 ; rotâmeros em 27,6); 43,6 (CH_2 ; rotâmero em 46,7); 48,6 (CH; rotâmero em 47,3); 96,9 (CH; rotâmero em 94,0); 128,6 (CH); 129,6; (CH);

IV - FT (pastilha de KBr, cm^{-1}), principais sinais.

3030, 2980, 2861, 1650, 1626, 1580, 1398, 1250, 1090, 915, 843.

3.4.6.2. Síntese do 6-(4-fluorobenzil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carbaldeído **52b**

- Sólido amorfo levemente amarelo claro
- $C_{13}H_{11}FN_2O_3$
- MM: 262,23 g/mol
- Rf: 0,45 (AcOEt/hexano 2:3)
- PF: 112-115 °C
- Rendimento: 96%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.6.1.

Os reagentes utilizados foram o álcool **49b** (0,3 g; 1,135 mmol; CH_2Cl_2 0,7 mL); cloreto de oxalila **50** (0,12 mL; 1,4059 mmol; CH_2Cl_2 2,62 mL); DMSO seco **51** (0,2 mL; 2,822 mmol; CH_2Cl_2 0,6 mL); trietilamina (0,8 mL; 5,7123 mmol). A purificação do aldeído **52b** foi feita por meio de cromatografia em coluna *flash* com o sistema eluente de acetato de etila/hexano (3:7). A massa obtida foi 0,29 g, correspondendo a um rendimento de 96%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **52b**

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,10-2,20 (m, 2H); 3,13 (sl, 1H) rotâmero em 3,66; 4,04 (t, $J = 8,1$ Hz, 1H); 4,44 (sl, 1H); 6,24 (sl, 1H); 7,12 (t; $J = 8,4$ Hz, 2H); 7,69 (sl, 2H); 9,88 (s, 1H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

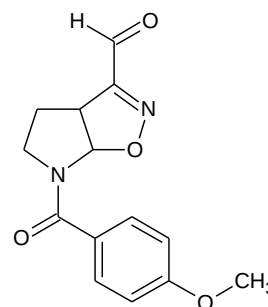
27,3 (CH_2); 43,4 (CH_2); 48,4 (CH); 97,1 rotâmero em 94,3; 115,6 (d, $J = 21$ Hz; CH), 130,5 (CH); 132,0 (C); 159,1 (C=N); 162,5 e 165,8 (d, $J = 250$ Hz, C); 168,6 (C=O); 185,2 (C=O)

IV - FT (pastilha de KBr, cm^{-1}), principais sinais.

3.048, 2.960, 2.857, 1.700, 1.626, 1.388, 1.230, 854.

3.4.6.3. Síntese do 6-(4-metoxibenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carbaldeído **52c**

- Sólido amorfo levemente amarelado
- $C_{14}H_{14}N_2O_4$
- MM: 274,27 g/mol
- Rf: 0,36 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 119 °C
- Rendimento: 86%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.6.1.

Os reagentes utilizados foram o álcool **49c** (1,5 g; 5,4438 mmol; CH_2Cl_2 3,36 mL); cloreto de oxalila (0,58 mL; 6,7433 mmol **50**; CH_2Cl_2 12,52 mL); DMSO seco **51** (0,96 mL; 13,5342 mmol; CH_2Cl_2 2,9 mL); trietilamina (3,85 mL; 27,4561 mmol). A purificação do aldeído **52c** foi feita por meio de filtração em coluna de sílica (5 cm de sílica) com o sistema eluente acetato de etila/hexano (3:2). A massa obtida foi 1,28 g, correspondendo a um rendimento de 86%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **52c**

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.).

2,13 – 2,30 (m, 2H); 3,16 (sl, 1H); 3,83 (s, 3H); 4,00 (t, $J = 8,7\text{Hz}$, 1H); 6,93 (d, $J = 7,2\text{Hz}$, 2H); 7,64(d, $J = 7,6\text{Hz}$, 2H); 9,88 (s, 1H)

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.).

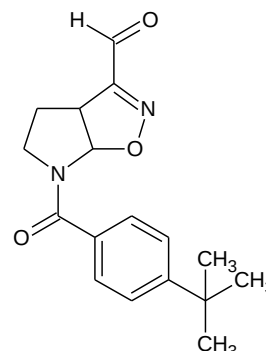
27,62 (CH_2); 47,87 (CH_2); 55,37 (CH_3); 113,70 (CH); 126,77 (C); 130,08 (CH); 159,33 (C=N); 169,26 (C=O); 185,26 (C=O)

I.V. - ATR (cm^{-1}), principais sinais.

2.967; 2.889; 2.857; 1.703; 1.607; 1.576; 1.393; 1.253; 1.178; 1.033; 918; 843

3.4.6.4. Síntese do 6-(4-*tert*-butilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carbaldeído **52d**

- Sólido amorfo levemente amarelado
- $C_{17}H_{20}N_2O_3$
- MM: 300,35 g/mol
- Rf: 0,46 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 107 °C
- Rendimento: 45%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.6.1.

Os reagentes utilizados foram o álcool **49d** (2,4 g; 7,9979 mmol; CH_2Cl_2 4,95 mL); cloreto de oxalila **50** (0,85 mL; 9,9004 mmol; CH_2Cl_2 22,15 mL); DMSO seco **51** (1,41 mL; 19,8796 mmol; CH_2Cl_2 4,24 mL); trietilamina (5,64 mL; 40,2423 mmol). A purificação do aldeído **52d** foi feita por filtração em sílica (5 cm de altura de sílica na coluna) com o sistema eluente acetato de etila/hexano (3:7). A massa obtida foi 1,07 g, correspondendo a um rendimento de 45%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **52d**

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

1,32 (s, 9H); 2,12 – 2,31 (m, 2H); 3,15 (sl, 1H) rotâmero em 3,90; 4,00 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H); 5,16 (s, 1H) rotâmero em 6,27; 7,45 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H); 7,59 (sl, 2H); 9,89 (s, 1H)

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.).

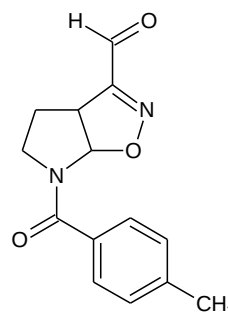
27,53 (CH_2); 31,10 (CH_3); 34,88 (CH_2); 43,14 (C); 48,13 (CH); 68,95 (CH_2); 97,40 (CH); 125,39 (CH); 127,84 (CH); 131,75 (C); 154,46 (C=N); 169,70 (C=O); 185,27 (C=O)

I.V. - ATR (cm^{-1}), principais sinais.

2.962; 2.871; 1.694; 1.646; 1.574; 1.386; 1.269; 1.140; 931; 847

3.4.6.5. Síntese do 6-(4-metilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carbaldeído **52e**

- Sólido amorfo amarelo claro
- C₁₄H₁₄N₂O₃
- MM: 258,27 g/mol
- R_f: 0,36 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 138 °C
- Rendimento: 70%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.6.1.

Os reagentes utilizados foram o álcool **49e** (0,54 g; 2,0749 mmol; CH₂Cl₂ 1,28 mL); cloreto de oxalila **50** (0,22 mL; 2,5696 mmol; CH₂Cl₂ 4,64 mL); DMSO seco **51** (0,36 mL; 5,1579 mmol; CH₂Cl₂ 1,10 mL); trietilamina (1,46 mL; 10,4406 mmol). A purificação do aldeído **52e** foi feita por filtração em sílica (5 cm de altura de sílica na coluna) com o sistema eluente acetato de etila/hexano (6:4). A massa obtida foi 0,37 g, correspondendo a um rendimento de 70%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **52e**

RMN de ¹H (CDCl₃, δ, ppm, 300 MHz, t.a.).

2,20 (m, 2H); 2,38 (s, 3H); 3,14 (sl, 1H); 4,01 (t, J = 8,1Hz, 1H); 4,45 (sl, 1H); 6,30 (sl, 1H); 7,24(d, J = 7,5 Hz, 2H); 7,55 (sl, 2H); 9,88 (s, 1H)

RMN de ¹³C (CDCl₃, δ, ppm, 75 MHz, t.a.).

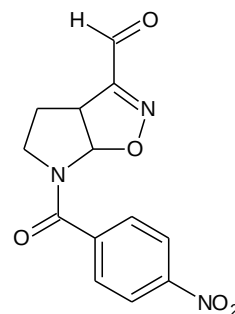
21,41 (CH₃); 27,50 (CH₂); 43,31 (CH₂); 48,16 (CH); 97,50 (CH); 127,98 (CH); 129,07 (CH); 131,78 (C); 141,39 (CH); 159,50 (C=N); 169,71 (C=O); 185,26 (C=O).

I.V. - ATR (cm⁻¹), principais sinais.

2.986; 2.865; 1.702; 1.583; 1.392; 1.260; 1.167; 920; 833

3.4.6.6. Síntese do 6-(4-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carbaldeído **52f**

- Sólido amorfo amarelo claro
- $C_{13}H_{11}N_3O_5$
- MM: 289,24 g/mol
- Rf: 0,45 (AcOEt/hexano 2:3)
- PF: 81 °C
- Rendimento: 54%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.6.1.

Os reagentes utilizados foram o álcool **49f** (0,365 g; 1,2545 mmol; CH_2Cl_2 0,776 mL); cloreto de oxalila **50** (0,132 mL; 1,5420 mmol; CH_2Cl_2 2,8 mL); DMSO seco **51** (0,22 mL; 3,1182 mmol; CH_2Cl_2 0,66 mL); trietilamina (0,885 mL; 6,3124 mmol). A purificação do aldeído **52f** foi feita por cromatografia em coluna *flash* com o sistema eluente acetato de etila/hexano (1:1). A massa obtida foi 0,2 g, correspondendo a um rendimento de 54%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **52f**

RMN de ^{13}C e 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.).

Substância degradou em solução, porém, sinal em 9,79 ppm, referente ao hidrogênio aldeídico aparece, em RMN 1H , assim como o sinal 186,1; referente ao carbono aldeídico em RMN ^{13}C . A análise de RMN será repetida imediatamente após a diluição da amostra.

I.V. - FT (pastilha de KBr, cm^{-1}), principais sinais.

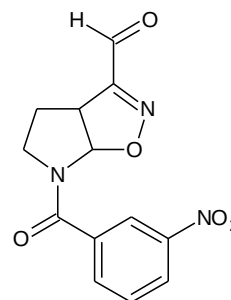
3080, 2986, 2862, 1702, 1625, 1580, 1389, 1266; 1167, 1090; 921, 841; 759; 484.

HRMS- ES- IT- TOF; $M^+ + 1$

Encontrado: 290,0771; Calculado: 396,1469.

3.4.6.7. Síntese do 6-(3-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isoxazol-3-carbaldeído **52g**

- Sólido amorfo amarelo claro
- $C_{13}H_{11}N_3O_5$
- MM: 289,24 g/mol
- Rf: 0,21 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 51°C
- Rendimento: 70%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.5.6.7.

Os reagentes utilizados foram o álcool **49g** (0,746 g; 2,5643 mmol; CH_2Cl_2 1,6 mL); cloreto de oxalila **50** (0,272 mL; 3,1757 mmol; CH_2Cl_2 5,75 mL); DMSO seco **51** (0,45 mL; 6,3745 mmol; CH_2Cl_2 1,36 mL); trietilamina (1,81 mL; 12,9033 mmol). A purificação do aldeído **52g** foi feita por filtração em sílica (5 cm de altura de sílica na coluna) com o sistema eluente acetato de etila/hexano (6:4). A massa obtida foi 0,52 g, correspondendo a um rendimento de 70%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **52g**

RMN de 1H ($CDCl_3$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,15 – 2,40 (m, 2H); 3,02 (sl, 1H); 4,10 (m, 1H); 4,41 (sl, 1H); 5,05 (s, 1H) rotâmero em 6,19; 6,67 (t, $J = 7,5\text{Hz}$, 1H); 8,02 (sl, 1H); 8,34 (d, $J = 9,0\text{ Hz}$, 1H); 8,51 (sl, 1H); 9,09 (s, 1H)

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

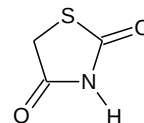
27,03 (CH_2); 43,82 (CH_2); 48,84 (CH); 96,47 (CH); 123,07 (CH); 125,59 (CH); 129,85 (CH); 133,79 (C); 136,36 (CH); 148,02 (C); 159,00 (C- NO_2); 167,14 (C=N); 171,00 (C=O); 184,97 (C=O)

I.V. - ATR (cm^{-1}), principais sinais.

3.087; 2.961; 2.881; 1.647; 1.577; 1.529; 1.396; 1.347; 876; 719

3.4.7. Síntese da tiazolidina-2,4-diona 53

- Sólido branco cristalino
- $C_3H_3NO_2S$
- MM: 117,12 g/mol
- Rf: 0,38 (Ciclohexano/Acetato de etila – 7:3)
- PF: 126 – 128 °C
- Rendimento: 57%



Uma mistura de tiouréia 24 (13 g; 0,1704 mol) e do ácido monocloroacético 25 (16 g; 0,1704 mol), em 40 mL de água destilada, foi levada a refluxo por 25 horas. O término da reação foi verificado por CCD e então a reação bruta foi colocada em refrigerador durante a noite. Posteriormente, o sólido formado foi filtrado e recristalizado em água. A massa obtida foi 11,4 g, correspondendo a um rendimento de 57%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 53

RMN de 1H (DMSO- d_6 , δ , ppm, 400 MHz, t.a.)

4,139 (s; 2H); 12,004 (s; 1H)

RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , δ , ppm, 100 MHz, t.a.)

39,97 (CH_2); 173,24 ($C=O$); 174,01 ($C=O$)

IV (ATR), cm^{-1}

3.105; 3.020; 2.997; 1.732; 1.643; 1.336; 1.159; 889

MS (ESI), m/z (%)

78,2 ($M+1$); 115,9 ($M-1$)

3.4.8. N-acilação da tiazolidina-2,4-diona **53**

3.4.8.1. Síntese da 3-[2-(4-clorofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona **55a**

Sólido branco

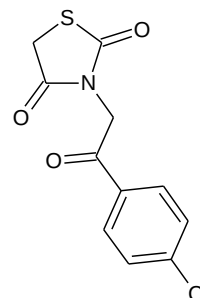
$C_{11}H_8ClNO_3S$

MM: 269,70 g/mol

Rf: 0,5 (Ciclohexano / Acetato de etila – 4:1)

Pf: 119,7-121,0 °C

Rendimento: 44,6%



Em uma suspensão de tiazolidina-2,4-diona **53** (0,585 g; 5 mmol) em etanol (8 mL) foi adicionado NaOH (0,24 g; 6 mmol), a suspensão branca resultante ficou sob agitação durante 10 minutos, quando foi adicionado o 2-bromo-4-cloroacetofenona **54a** (1,167 g; 5 mmol). Após refluxo de uma hora e remoção do solvente, ocorreu precipitação do NaBr após adição do acetato de etila que foi evaporado e à mistura resultante foi adicionado etanol. Um precipitado branco se formou. Posteriormente o precipitado foi filtrado em funil sinterizado e lavado com etanol. Foi obtido 0,6 g de um sólido branco, correspondendo a um rendimento de 44,6%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **55a**

RMN de 1H (DMSO- d_6 , δ , ppm, 400 MHz, t.a.)

4,398 (s; 2H); 5,136 (s; 2H); 7,662 (d; $J = 8,4$ Hz; 2H); 8,075 (d; $J = 8,4$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , δ , ppm, 100 MHz, t.a.)

34,01 (CH_2); 47,42 (CH_2); 129,08 (2CH); 130,11 (2CH); 132,51 (C); 139,25 (C-Cl); 171,50 (C=O); 171,80 (C=O); 190,52 (C=O)

IV (ATR), cm^{-1}

1.753; 1.672; 1.568; 1.379; 1.155; 983; 831; 786

MS (ESI), m/z (%)

270,0 (M+1)

3.4.8.2. Síntese da 3-[2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona **55b**

Sólido amarelo-alaranjado

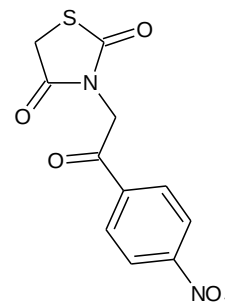
$C_{11}H_8N_2O_5S$

MM: 280,25

Rf: 0,25 (Ciclohexano / Acetato de etila – 3:2)

Pf: 151,5 °C

Rendimento: 78,5%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.8.1.

Os reagentes utilizados foram tiazolidina-2,4-diona **53** (0,585 g; 5 mmol; 1 eq.), NaOH (0,24 g; 6 mmol); 2-bromo-4-nitro-acetofenona **54b** (1,284 g; 5 mmol) e etanol (4 mL).

A purificação do produto foi feita por cromatografia em coluna “Flash” automática utilizando um gradiente de solventes: acetato de etila/ciclohexano (3:7) e em seguida acetato de etila/ciclohexano (1:1). Foi obtido 1,1 g de um sólido amarelo-alaranjado, correspondendo a um rendimento de 78,5%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **55b**

RMN de 1H (DMSO- d_6 , δ , ppm, 400 MHz, t.a.)

4,414 (s; 2H); 5,239 (s; 2H); 8,297 (d; $J = 8,8$ Hz; 2H); 8,386 (d; $J = 8,8$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , δ , ppm, 100 MHz, t.a.)

34,08 (CH_2); 47,78 (CH_2); 123,97 (2CH); 129,76 (2CH); 138,36 (C); 150,52 (C- NO_2); 171,48 (C=O); 171,81 (C=O); 191,06 (C=O)

IV (ATR), cm^{-1}

2.987; 2.945; 1.749; 1.674; 1.600; 1.514; 1.344; 1.317; 1220; 1.155; 852

MS (ESI), m/z (%)

279,2 (M-1)

3.4.8.3. Síntese da 3-[2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona **55c**

Sólido branco

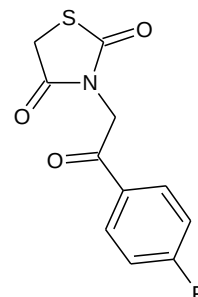
$C_{11}H_8FNO_3S$

MM: 253,24 g/mol

Rf: 0,25 (Ciclohexano / Acetato de etila – 7:3)

Pf: degradou

Rendimento: 48,5%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.8.1.

Os reagentes utilizados foram tiazolidina-2,4-diona **53** (0,585 g; 5 mmol), NaOH (0,24 g; 6 mmol; 1,2 eq.), 2-cloro-4-flúor-acetofenona **54c** (0,863 g; 5 mmol) e etanol (4 mL). Ao término, a suspensão resultante foi filtrada. O primeiro precipitado retirado foi o NaCl, em seguida, o filtrado foi evaporado e então etanol foi adicionado, um segundo precipitado se formou. A mistura foi filtrada em funil sinterizado e o precipitado foi também lavado com etanol. A massa obtida foi 0,61 g de um sólido branco.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **55c**

RMN de 1H (DMSO- d_6 , δ , ppm, 400 MHz, t.a.)

4,399 (s; 2H); 5,134 (s; 2H); 7,422 (ft; $J' = J'' = 8,8$ Hz; 2H); 8,155 (dd; $J' = 5,6$ Hz; $J'' = 8,4$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , δ , ppm, 100 MHz, t.a.)

34,03 (CH_2); 47,41 (CH_2); 116,08 (d; $J = 21$ Hz; 2CH); 130,62 (d; $J = 3$ Hz; C); 131,37 (d; $J = 10$ Hz; 2CH); 165,60 (d; $J = 251$ Hz; C-F); 171,56 (C=O); 171,85 (C=O); 190,01 (C=O)

IV (ATR), cm^{-1}

3.076; 1.751; 1.672; 1.595; 1.228; 1.155; 835

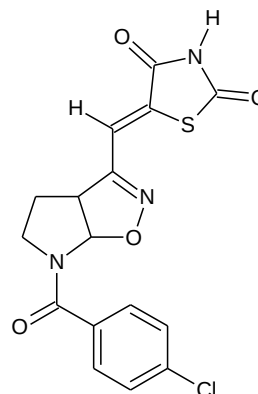
MS (ESI), m/z (%)

254,0 (M+1); 252,2 (M-1)

3.4.9. Condensação dos aldeídos isoxazolínicos **52a-g** com a tiazolidina-2,4-diona **53** e derivados **55a-c**

3.4.9.1. Síntese da (Z)-5-((6-(4-clorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **56a**

- Sólido branco amorfo
- $C_{16}H_{12}ClN_3O_4S$
- MM: 377,80 g/mol
- Rf: 0,13 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 234 – 237°C (carbonizou logo após a fusão)
- Rendimento: 24%



Em um balão de fundo redondo foram adicionados a tiazolidina-2,4-diona **53** (0,1 g; 0,3588 mmol) e o acetato de sódio anidro (1,19 g; 1,1713 mmol). Separadamente foi pesado o aldeído isoxazolínicos **52a** (01 g, 0.3588 mmol). Ao balão contendo a tiazolidina-2,4-diona **53** e o acetato de sódio, foram adicionados o ácido acético glacial (0,71 mL) e após homogeneização o aldeído **52a** foi adicionado. A mistura foi aquecida à 130°C. O término da reação foi verificado após duas horas, a partir do início do refluxo, por CCD.

Após resfriamento, à temperatura ambiente, foi adicionada água destilada. O precipitado formado, juntamente com o sobrenadante foram transferidos para um tubo de ensaio e centrifugado. O sobrenadante aquoso foi retirado e o sólido restante sofreu lavagens sucessivas com acetato de etila, seguidas de centrifugação. O procedimento de lavagens foi realizado até o sobrenadante ficar incolor. Após a lavagem/centrifugação com acetato de etila, o processo foi repetido utilizando etanol. Por fim, foi feita uma filtração em carvão ativado sob acetato de etila. Após a filtração, o carvão foi lavado com acetato de etila para a retirada de resquícios do produto que ficaram adsorvidos à superfície. O processo de lavagem/centrifugação deve ser realizado até obtenção do sólido branco. A massa obtida foi 0,06 g, sendo o rendimento obtido 24%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 56a**RMN de ^1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.)**

2,17 (sl, 2H); 4,22 (t, $J = 8,1\text{Hz}$, 1H); 6,19 (sl, 1H) rotâmero em 6,70; 7,29 (s, 1H); 7,59 (sl, 4H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.)

27,09 (CH_2); 43,34 (CH_2) rotâmero em 47,02; 50,67 (CH) rotâmero em 52,56; 94,97 (CH); 16,64 (CH); 128,50 (CH); 129,60 (CH); 131,60 (C); 134,14 (C); 135,35 (C); 156,39 (C=N); 166,41 (C=O); 167,65 (C=O); 168,78 (C=O)

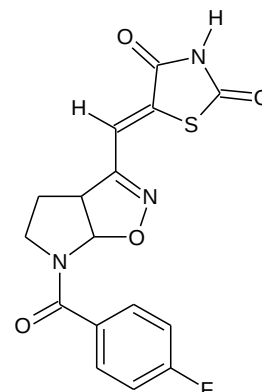
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

3.135; 3.051; 2.786; 1.741; 1.693; 1.636; 1.533; 1.415; 935; 840

HRMS (MALDI-TOF) m/z : $[\text{M}+1]$ calculado 378,0315; encontrado 378,0316

3.4.9.2. Síntese da (Z)-5-((6-(4-fluorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **56b**

- Sólido bege claro
- $C_{16}H_{12}FN_3O_4S$
- MM: 361,34 g/mol
- Rf: 0,42 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 234,7 – 236,4°C (carbonizou logo após a fusão)
- Rendimento: 36%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52b** (0,250 g; 0,9533 mmol), o acetato de sódio anidro (0,313 g; 3,1649 mmol); a tiazolidina-2,4-diona **53** (0,112 g; 0,9533 mmol) e o ácido acético glacial (1,9 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em acetato de etila e posteriormente etanol, seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,1234 g, sendo o rendimento obtido 36%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 56b

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,18 (m; 2H); 3,00 (sl; 1H); 4,14 (sl; 1H); 4,23 (m; 1H); 6,22 (sl; 1H; rotâmero em 6,72); 7,30 (m; 3H); 7,67 (sl; 2H); 12,65 (sl; 1H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,06 (CH_2); 43,36 (CH_2); 52,54 (CH; rotâmero em 50,66); 95,06 (CH); 115,39 (d; $J^2=21,75$ Hz; 2CH); 116,69 (CH); 130,31 (d; $J^3=9$ Hz; 2CH); 131,53 (C); 131,82 (d; $J^4=3,75$ Hz; C); 156,40 (C); 163,19 (d; $J^1=246,75$ Hz; C-F); 166,43 (2C=O); 168,79 (C=O)

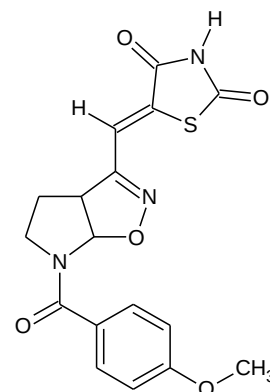
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

3.150; 3.051; 1.743; 1.692; 1.652; 1.614; 1.602; 841.

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado: 362,0610; encontrado 362,0606

3.4.9.3. Síntese da (Z)-5-((6-(4-metóxiibenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **56c**

- Sólido amorfo branco
- $C_{17}H_{15}N_3O_5S$
- MM: 373,38 g/mol
- Rf: 0,2 (AcOEt/hexano 4:1)
- PF: 216,7°C
- Rendimento: 41%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.5.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolíico **52c** (0,2 g; 0,729 mmol), o acetato de sódio anidro (0,239 g; 2,4204 mmol); a tiazolidina-2,4-diona **53** (0,08 g; 0,729 mmol) e o ácido acético glacial (1,46 mL). Para o isolamento, quando a reação chegou em temperatura ambiente foram feitas lavagens/centrifugação com acetato de etila, o processo foi repetido utilizando etanol. A massa obtida foi 0,053 g, sendo o rendimento obtido 41%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **56c**

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.)

2,16 (sl, 2H); 2,99 (sl 1H) rotâmero em 3,34; 3,81 (s, 3H); 4,21 (m, 1H); 6,55 (sl, 1H) rotâmero em 6,74; 7,01 (d, $J = 8,4\text{Hz}$, 2H); 7,30 (s, 1H); 7,59 (d, $J = 8,1\text{Hz}$, 2H); 12,66 (sl, 1H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.)

26,3 (CH_2); 43,3 (CH_2); 55,3 (CH_3); 95,1 (CH); 113,2 (CH); 116,7 (CH); 127,2 (C); 127,7 (CH); 131,37 (C); 156,0 (C-S); 161,2 (C=N); 166,4 (C=O); 168,3 (C=O); 168,7 (C=O)

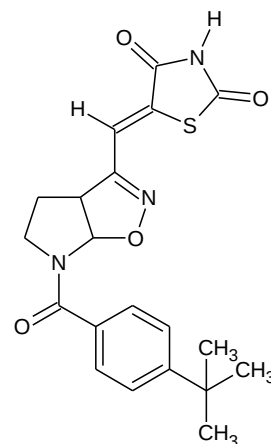
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

3.124; 2.984; 2.757; 1.753; 1.703; 1.600; 1.567; 1.538; 1.431; 1.368; 1.256; 1.172; 1.136; 1.020; 838; 762

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 374,0810; encontrado 374,0813

3.4.9.4. Síntese da (Z)-5-((6-(4-*tert*-butilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **56d**

- Sólido amorfo branco
- $C_{20}H_{21}N_3O_4S$
- MM: 399,46 g/mol
- Rf: 0,32 (AcOEt/hexano 4:1)
- PF: 243°C (carbonizou em 255°C)
- Rendimento: 68%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52d** (0,2 g; 0,6658 mmol), o acetato de sódio anidro (0,218 g; 2,2104 mmol); a tiazolidina-2,4-diona **53** (0,078 g; 0,6658 mmol) e o ácido acético glacial (1,33 mL). A massa obtida foi 0,181 g, sendo o rendimento obtido 22%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **56d**

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.)

1,30 (s, 9H); 2,15 (sl, 1H); 2,97 (sl, 1H) rotâmero em 3,52; 3,3 (s, 2H); 4,21 (m, 1H); 6,23 (sl, 1H) rotâmero em 6,72; 7,30 (s, 1H); 7,51 (s, 4H); 12,66 (sl, 1H)

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 400 MHz, 65°C)

1,31 (s, 9H); 2,15 (m, 2H); 3,12 (sl, 1H); 3,95 (m, 1H); 4,20 (t, $J = 7,6$ Hz; 1H); 6,42 (sl, 1H); 7,27 (s, 1H); 7,52 (sl, 4H); 12,38 (sl, 1H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 100 MHz, t.a.)

27,2 (CH_2); 30,8 (CH_3); 34,5 (C); 43,1 (CH_2) rotâmero em 47,0; 50,4 (CH) rotâmero em 52,3; 92,3 (CH) rotâmero em 95,2; 116,7 (C); 125,0 (CH); 127,5 (CH); 131,4 (CH); 132,4 (CH); 153,2 (C); 156,2 (C=N); 166,5 (C=O); 168,7 (C=O)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 100 MHz, 65°C)

27,4 (CH_2); 30,6 (CH_3); 34,2 (C); 43,2 (CH_2); 51,1 (CH); 94,4 (CH); 116,5 (C); 124,7 (CH); 127,1 (CH); 131,1 (CH); 132,3 (CH); 153,0 (C); 155,8 (C=N); 166,0 (C=O); 168,1 (C=O); 168,4 (C=O)

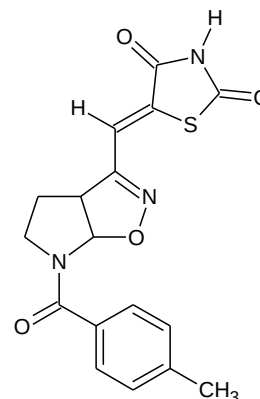
IV – ATR (cm⁻¹), principais sinais.

3.130; 3.041; 2.962; 2.761; 1.759; 1.702; 1.611; 1.538; 1.420; 1.364; 1.274; 1.146;
907; 856; 672

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 400,1331; encontrado: 400,1330

3.4.9.5. Síntese da (Z)-5-((6-(4-metilbenzoi)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **56e**

- Sólido branco amorfo
- $C_{17}H_{15}N_3O_4S$
- MM: 357,38 g/mol
- Rf: 0,25 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 212,8 – 213,3°C
- Rendimento: 40,5%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52e** (0,150 g; 0,5807 mmol), o acetato de sódio anidro (0,1905 g; 1,9279 mmol); a tiazolidina-2,4-diona **53** (0,0688 g; 0,5807 mmol) e o ácido acético glacial (1,1 mL). A massa obtida foi 0,084 g, sendo o rendimento obtido 40,5%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 56e

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,16 (m; 2H); 2,35 (s; 3H); 2,98 (sl; 1H); 4,12 (sl; 1H); 4,22 (m; 1H); 6,23 (sl; 1H; rotâmero em 6,71); 7,28 (sl; 2H); 7,30 (s; 1H); 7,49 (sl; 2H); 12,66 (sl; 1H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

20,96 (CH_3); 27,19 (CH_2); 43,30 (CH); 52,41 (CH); 95,25 (CH); 116,76 (CH); 127,69 (2CH); 128,86 (2CH); 131,40 (C); 132,47 (C); 140,45 (C); 156,32 (C); 166,40 (2C=O); 168,78 (C=O)

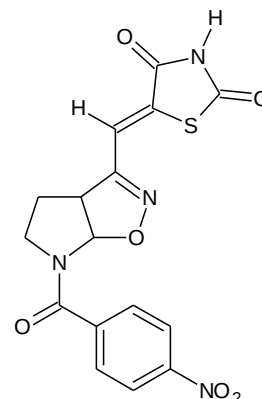
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

2.956; 1.756; 1.715; 1.703; 1.594; 1.568; 1.429; 676

HRMS (MALDI-TOF) m/z: calculado 358,0861; encontrado 358,0865

3.4.9.6. Síntese da (Z)-5-((6-(4-nitrobenzoi)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrol[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **56f**

- Sólido amorfo bege claro
- $C_{16}H_{12}N_4O_6S$
- MM: 388,35 g/mol
- Rf: 0,45 (AcOEt/hexano 7:3)
- PF: 248,4 – 249,6°C
- Rendimento: 27%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52f** (0,150 g; 0,5186 mmol), o acetato de sódio anidro (0,1157 g; 1,7014 mmol); a tiazolidina-2,4-diona **53** (0,61 g; 0,5186 mmol) e o ácido acético glacial (1,0 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol e posteriormente metanol seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,0545 g, sendo o rendimento obtido 27%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 56f

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,19 (sl; 2H); 3,05 (m; 1H); 4,10 (m; 1H); 4,25 (sl; 1H); 6,15 (d; $J=6$ Hz; 1H; rotâmero em 6,69); 7,27 (s; $J=9$ Hz; 2H); 8,33 (d; $J=9$ Hz; 2H); 12,39 (N-H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,04 (CH_2 ; rotâmero em 28,37); 43,57 (CH_2); 52,81 (CH; rotâmero em 50,99); 94,66 (CH; rotâmero em 92,27); 116,52 (CH); 123,77 (2CH); 129,11 (2CH); 132,01 (C); 141,46 (C); 148,47 (C- NO_2); 156,52 (C); 166,68 (C=O); 167,53 (C=O); 168,96 (C=O)

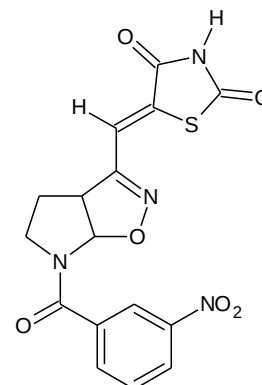
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

3.133; 3.018; 2.794; 1.743; 1.687; 1.659; 1.618; 1.601; 1.520; 1.351; 845; 820

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 389,0555; encontrado 389,0628

3.4.9.7. Síntese da (Z)-5-((6-(3-nitrobenzoi)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrol[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **56g**

- Sólido amorfo amarelo claro
- $C_{16}H_{12}N_4O_6S$
- MM: 388,35 g/mol
- Rf: 0,42 (AcOEt/hexano 7:3)
- PF: 224,2 – 225°C
- Rendimento: 37%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolíico **52g** (0,145 g; 0,5013 mmol), o acetato de sódio anidro (0,1115 g; 1,6542 mmol); a tiazolidina-2,4-diona **53** (0,0585 g; 0,5013 mmol) e o ácido acético glacial (1,0 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol e posteriormente metanol, seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,72 g, sendo o rendimento obtido 37%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 56g

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,21 (sl; 2H); 3,04 (sl; 1H); 4,13 (sl; 1H); 4,25 (s; 1H); 6,22 (d; $J = 9$ Hz; 1H; rotâmero em 6,70); 7,29 (s; 1H); 7,81 (t; $J = 9$ Hz; 1H); 8,03 (d; $J = 6$ Hz; 1H); 8,30 (s; 1H); 8,38 (d; $J = 12$ Hz; 1H); 12,39 (sl; N-H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,10 (CH_2); 43,60 (CH_2); 52,79 (CH); 94,82 (CH); 116,60 (C); 122,44 (CH); 125,27 (CH); 130,42 (CH); 134,20 (CH); 136,86 (CH); 147,61 (C- NO_2); 156,52 (C); 166,51 (C=O); 166,98 (C=O); 168,85 (C=O)

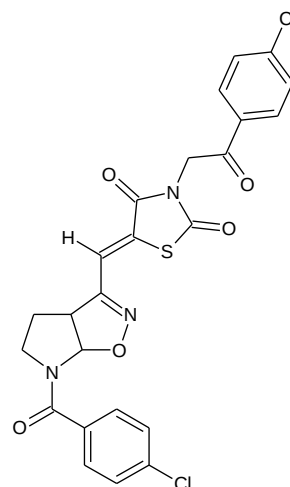
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

3.043; 1.743; 1.694; 1.636; 1.613; 1.535; 1.325; 718

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 389,0555; encontrado 389,0556

3.4.9.8. Síntese da (Z)-5-((6-(4-clorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirroló[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **57a**

- Sólido branco amorfo
- $C_{24}H_{17}Cl_2N_3O_5S$
- MM: 530,37 g/mol
- Rf: 0,32 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 217,8 – 218,9°C
- Rendimento: 55%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.5.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52a** (0,150 g; 0,5394 mmol), o acetato de sódio anidro (0,160 g; 1,6182 mmol); a 3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **55a** (0,145 g; 0,5394 mmol) e o ácido acético glacial (1,0 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol seguida de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,157 g, sendo o rendimento obtido 55%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57a

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,22 (sl; 2H); 3,04 (sl; 1H); 4,13 (sl; 1H); 4,28 (sl; 1H); 5,32 (s; 2H); 6,26 (sl; 1H; rotâmero em 6,75); 7,63 (m; 7H); 8,10 (d; $J = 9$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,10 (CH_2); 43,40 (CH_2); 47,77 (CH_2); 52,50 (CH); 95,20 (CH); 118,80 (CH); 128,50 (2CH); 129,18 (2CH); 129,57 (2CH); 130,28 (2CH); 132,38 (2C); 134,12 (C); 135,29 (C); 139,47 (C); 156,48 (C); 164,32 (C=O); 167,89 (2C=O); 190,47 (C=O)

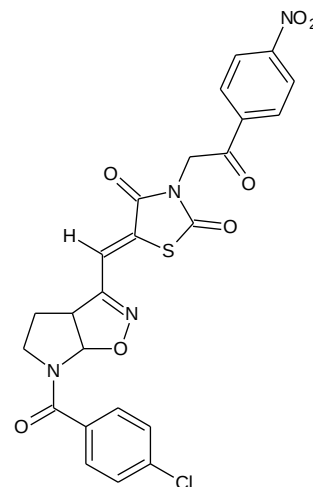
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

3.033; 2.943; 1.742; 1.683; 1.651; 1.644; 1.614; 1.589; 1.090; 840; 730

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 530,0344; encontrado 530,0030

3.4.9.9. Síntese da (Z)-5-((6-(4-clorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrólo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)thiazolidina-2,4-diona **57b**

- Sólido laranja amorfo
- $C_{24}H_{17}ClN_4O_7S$
- MM: 540,93 g/mol
- Rf: 0,19 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 186,2°C
- Rendimento: 69,3%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52a** (0,120 g; 0,4315 mmol), o acetato de sódio anidro (0,096 g; 1,4239 mmol); a 3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)thiazolidina-2,4-diona **55b** (0,121 g; 0,4315 mmol) e o ácido acético glacial (0,82 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol seguida de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,161 g, sendo o rendimento obtido 69,3%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57b

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 400 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,23 (sl; 2H); 3,04 (sl; 1H); 4,13 (sl; 1H); 4,28 (m; 1H); 5,42 (s; 2H); 6,26 (sl; 1H; rotâmero em 6,75); 7,55 (s; 1H); 7,62 (m; 4H); 8,32 (d; $J = 8$ Hz; 2H); 8,40 (d; $J = 8$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 100 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,06 (CH_2 ; rotâmero em 28,34); 43,32 (CH_2 ; rotâmero em 47,08); 48,09 (CH_2); 52,38 (CH; rotâmero em 50,58); 96,22 (CH; rotâmero em 92,61); 118,90 (CH); 124,02 (2CH); 128,49 (2CH); 129,58 (2CH+C); 129,90 (2CH); 134,11 (C); 136,31 (C-Cl); 138,21 (C); 150,61 (C-NO₂); 156,39 (C); 164,25 (C=O); 167,85 (C=O); 171,99 (C=O); 190,96 (C=O)

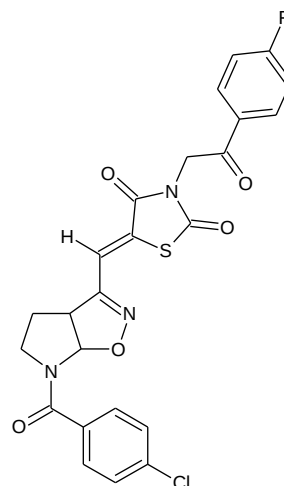
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

2.973; 1.743; 1.699; 1.688; 1.653; 1.621; 1.521; 1.346; 1.220; 834; 709

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 541,0579; encontrado 541,0558

3.4.9.10. Síntese da (Z)-5-((6-(4-clororobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrólo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiiazolidina-2,4-diona **57c**

- Sólido marrom escuro amorfo
- $C_{24}H_{17}ClFN_3O_5S$
- MM: 513,92 g/mol
- Rf: 0,28 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 204,6 – 205,9°C
- Rendimento: 36,3%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52a** (0,120 g; 0,4315 mmol), o acetato de sódio anidro (0,096 g; 1,4239 mmol); a 3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiiazolidina-2,4-diona **55c** (0,107 g; 0,4315 mmol) e o ácido acético glacial (0,82 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol e posteriormente metanol seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,080 g, sendo o rendimento obtido 36,3%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57c

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,21 (sl; 2H); 3,04 (sl; 1H); 4,12 (sl; 1H); 4,28 (sl; 1H); 5,30 (s; 2H); 6,25 (sl; rotâmero em 6,77); 7,45 (ft; $J'=J''=6$ Hz; 2H); 7,53 (sl. 1H); 7,59 (sl; 4H); 8,16 (sl; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,09 (CH_2); 43,44(CH_2); 47,81 (CH_2); 52,58 (CH); 95,25 (CH); 116,28 (d; $J^2=21,75$ Hz; 2CH); 118,84 (CH); 128,61 (2CH); 129,67 (2CH); 130,57 (C); 131,62 (d; $J^3=9$ Hz; 2CH); 135,29 (C); 164,18 (C); 135,42 (C-Cl); 156,59 (C); 164,14 (C=O); 166,00 (d; $J^1=234$ Hz; C-F); 168,04 (2C=O); 190,03 (C=O)

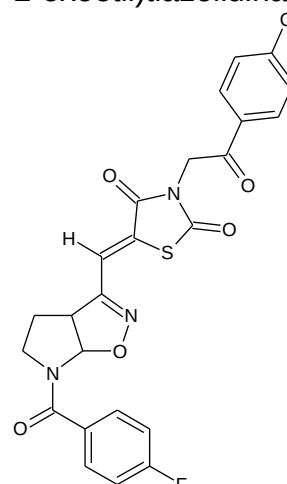
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

2.943; 1.742; 1.683; 1.644; 1.614; 1.597; 1.114; 841; 728

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 514,0634; encontrado 514,0658

3.4.9.11. Síntese da (Z)-5-((6-(4-fluorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)thiazolidina-2,4-diona **57d**

- Sólido bege amorfo
- $C_{24}H_{17}ClFN_3O_5S$
- MM: 513,92 g/mol
- Rf: 0,28 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 218,5 – 219,3°C
- Rendimento: 61,3%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52b** (0,120 g; 0,4576 mmol), o acetato de sódio anidro (0,102 g; 1,5100 mmol); a 3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)thiazolidina-2,4-diona **55a** (0,123 g; 0,4576 mmol) e o ácido acético glacial (0,88 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,144 g, sendo o rendimento obtido 61,3%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57d

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,21 (sl; 2H); 3,02 (sl; 1H); 4,13 (sl; 1H); 4,27 (sl; 1H); 5,31 (s; 2H); 6,26 (sl; rotâmero em 6,75); 7,33 (sl; 2H); 7,52 (s; 1H); 7,67 (m; 4H); 8,09 (d; $J=9$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,57 (CH_2); 43,39 (CH_2); 47,84 (CH_2); 52,83 (CH); 95,26 (CH); 115,49 (d; $J^2=21,75$ Hz; 2CH); 118,89 (CH); 128,57 (C); 129,29 (4CH); 130,36 (2CH); 131,86 (d; $J^4=3$ Hz; C); 132,45 (C); 139,59 (C-Cl); 161,64 (C); 163,28 (d; $J^1=246,75$ Hz; C-F); 164,42 (C=O); 168,00 (2C=O); 190,58 (C=O)

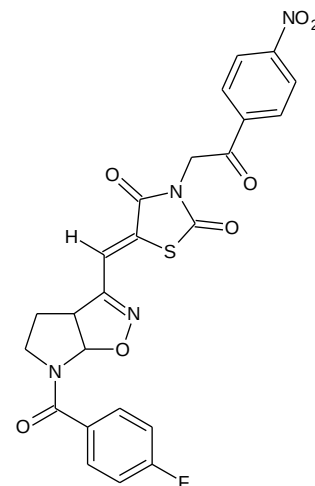
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

1.742; 1.694; 1.683; 1.646; 1.615; 1.603; 1.147; 842; 762

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 514,0639; encontrado 514,0636

3.4.9.12. Síntese da (Z)-5-((6-(4-fluorobenzoyl)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)thiazolidina-2,4-diona **57e**

- Sólido amorfo marrom claro
- $C_{24}H_{17}FN_4O_7S$
- MM: 524,47 g/mol
- Rf: 0,44 (AcOEt/hexano 7:3)
- PF: 169°C
- Rendimento: 66%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52b** (0,111 g; 0,4253 mmol), o acetato de sódio anidro (0,139 g; 1,411 mmol); a 3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)thiazolidina-2,4-diona **55b** (0,119 g; 0,4253 mmol) e o ácido acético glacial (0,85 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em acetato de etila seguida de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,139 g, sendo o rendimento obtido 66%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57e

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.)

2,18-2,30 (m, 2H); 3,22 (sl, 1H); 4,05 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H); 4,5 (sl, 1H); 5,17 (s, 2H); 6,34 (sl, 1H); 7,14 (t, $J = 8,1$ Hz; 2H); 7,33 (sl, 2H); 8,15 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H); 8,37 (d, $J = 8,7$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.)

47,5 (CH₂); 115,4 (CH); 115,7 (CH); 117,5 (CH); 124,2 (CH); 129,2 (CH); 130,4 (CH); 138,3 (C); 151,0 (C); 162,56 (C); 164,6 (C); 165,9 (C=O); 167,8 (C=O); 188,4 (C=O)

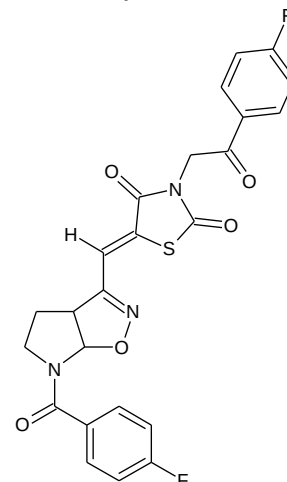
IV – ATR (cm⁻¹), principais sinais.

3.077; 2.970; 2.934; 1.743; 1.689; 1.661; 1.620; 1.601; 1.520; 1.388; 1.346; 1.221; 1.151; 850; 709

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 525,0874; encontrado 525,0870

3.4.9.13. Síntese da (Z)-5-((6-(4-fluorobenzoyl)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiiazolidina-2,4-diona **57f**

- Sólido bege claro amorfo
- $C_{24}H_{17}F_2N_3O_5S$
- MM: 497,47 g/mol
- Rf: 0,26 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 221,5 – 222,5°C
- Rendimento: 23,4%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolínic **52b** (0,130 g; 0,4957 mmol), o acetato de sódio anidro (0,110 g; 1,6358 mmol); a 3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiiazolidina-2,4-diona **55c** (0,125 g; 0,4957 mmol) e o ácido acético glacial (0,96 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol e posteriormete metanol seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,0577 g, sendo o rendimento obtido 23,4%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57f

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,22 (sl; 2H); 3,04 (sl; 1H); 4,14 (sl; 1H); 4,28 (sl; 1H); 5,32 (s; 2H); 6,27 (sl; 1H; rotâmero em 6,76); 7,34 (sl; 2H); 7,44 (ft; $J'=J''=6$ Hz; 2H); 7,54 (s; 1H); 7,69 (sl; 2H); 8,17 (dd; $J'=6$ Hz; $J''=9$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,49 (CH_2); 43,39 (CH_2); 47,69 (CH_2); 52,37 (CH); 95,26 (CH); 115,35 (d; $J^2=21,75$ Hz; 2CH); 116,13 (d; $J^2=21,75$ Hz; 2CH); 118,78 (CH); 128,43 (C); 130,26 (d; $J^3=9$ Hz; 2CH); 131,50 (d; $J^3=9,75$ Hz; 2CH); 131,77 (C); 131,81 (C); 156,40 (C); 162,75 (d; $J^1=186,75$; C-F); 164,31 (C=O); 166,06 (d; $J^1=189$ Hz; C-F); 167,88 (2C=O); 189,90 (C=O)

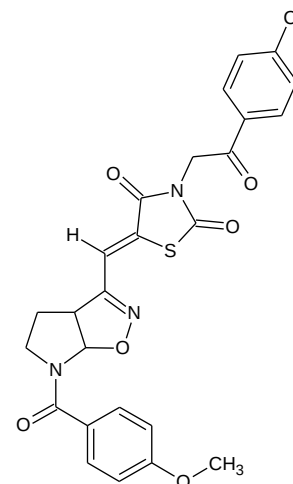
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

2.943; 1.742; 1.683; 1.647; 1.615; 1.598; 1.227; 1.146; 842

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 498,0935; encontrado 498,0936

3.4.9.14. Síntese da (Z)-5-((6-(4-metoxibenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)thiazolidina-2,4-diona **57g**

- Sólido bege escuro amorfo
- $C_{25}H_{20}ClN_3O_6S$
- MM: 525,96 g/mol
- Rf: 0,23 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 191,3 – 191,8°C
- Rendimento: 51%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52c** (0,150 g; 0,5472 mmol), o acetato de sódio anidro (0,1784 g; 1,8057 mmol); a 3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)thiazolidina-2,4-diona **55a** (0,147 g; 0,5472 mmol) e o ácido acético glacial (1,0 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,1476 g, sendo o rendimento obtido 51%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57g

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,45 (sl; 2H); 3,05 (sl; 1H); 3,82 (s; 3H); 4,13 (sl; 1H); 4,26 (sl; 1H); 5,32 (s; 2H); 6,33 (sl; 1H; rotâmero em 6,74); 7,02 (d; J = 9 Hz; 2H); 7,54 (s; 1H); 7,60 (d; J = 6 Hz; 2H); 7,68 (d; J = 9 Hz; 2H); 8,10 (d; J = 9 Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,63 (CH_2); 43,54 (CH_2); 47,76 (CH_2); 52,72 (CH); 55,36 (CH_3); 94,91 (CH); 113,63 (2 CH); 119,93 (CH); 127,30 (C); 128,34 (C); 129,19 (2 CH); 129,75 (2 CH); 130,28 (2 CH); 132,40 (C); 139,48 (C-Cl); 156,31 (C); 161,05 (C); 164,34 (C=O); 167,92 (2C=O); 190,49 (C=O)

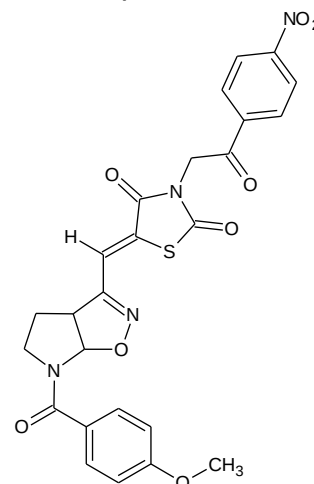
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

3.011; 2.941; 2.838; 1.741; 1.694; 1.683; 1.641; 1.608; 1.588; 1.380; 1.145; 840; 726

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 526,0834; encontrado 526,0829

3.4.9.15. Síntese da (Z)-5-((6-(4-metóxiibenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)thiazolidina-2,4-diona **57h**

- Sólido amarelo amorfo
- $C_{25}H_{20}N_4O_8S$
- MM: 536,51 g/mol
- Rf: 0,41 (AcOEt/hexano 7:3)
- PF: 223,6°C
- Rendimento: 53,6%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52c** (0,137 g; 0,5 mmol), o acetato de sódio anidro (0,111 g; 1,65 mmol); a 3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)thiazolidina-2,4-diona **55b** (0,140 g; 0,5 mmol) e o ácido acético glacial (0,96 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol e posteriormente metanol seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,1438 g, sendo o rendimento obtido 53,6%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57h

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,21 (sl; 2H); 3,04 (sl; 1H); 3,82 (s; 3H); 4,13 (sl; 1H); 4,27 (m; 1H); 5,42 (s; 2H); 6,34 (sl; rotâmero em 6,78; 1H); 7,03 (d; $J=9$ Hz; 2H); 7,56 (s; 1H); 7,61 (d; $J=9$ Hz; 2H); 8,32 (d; $J=6$, Hz; 2H); 8,40 (d; $J=9$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,64 (CH_2); 43,54 (CH_2); 48,84 (CH_2); 52,71 (CH); 55,73 (CH_3); 94,91 (CH); 114,01 (2CH); 119,41 (CH); 124,41 (2CH); 127,73 (C); 128,67 (C); 130,12 (2CH); 138,64 (2CH); 138,64 (C); 151,00 (C- NO_2); 156,34 (C); 161,42 (C-OMe); 164,64 (C=O); 168,26 (2C=O); 191,37 (C=O)

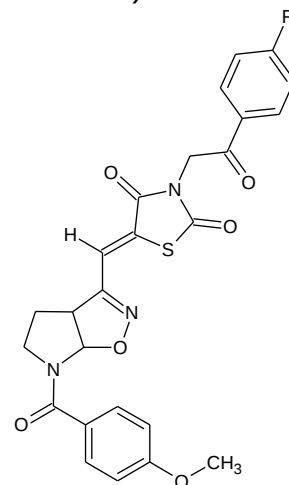
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

3.079; 2.975; 2.937; 1.742; 1.689; 1.648; 1.606; 1.519; 1.389; 1.346; 852; 837

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 537,1074; encontrado 537,1071

3.4.9.16. Síntese da (*Z*)-5-((6-(4-metóxiibenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3a*H*-pirrolo[3,2-*d*]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiiazolidina-2,4-diona **57i**

- Sólido cinza amorfo
- C₂₅H₂₀FN₃O₆S
- MM: 509,50 g/mol
- R_f: 0,52 (AcOEt/hexano 7:3)
- PF: 199,9 –200,8°C
- Rendimento: 55%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolíico **52c** (0,165 g; 0,6019 mmol), o acetato de sódio anidro (0,1974g; 1,9984 mmol); a 3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiiazolidina-2,4-diona **55c** (0,152 g; 0,6019 mmol) e o ácido acético glacial (0,82 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol e posteriormente metanol seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,1693 g, sendo o rendimento obtido 55%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **57i**

RMN de ¹H (DMSO-D₆, δ, ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,21 (sl; 2H); 3,03 (sl; 1H); 3,82 (s; 3H); 4,14 (sl; 1H); 4,28 (m; 1H); 5,32 (s; 2H); 6,34 (sl; 1H; rotâmero em 6,76); 7,02 (d; *J* = 9 Hz; 2H); 7,43 (ft; *J'* = *J''* = 9 Hz; 2H); 7,54 (s; 1H); 7,60 (d; *J* = 9 Hz; 2H); 8,18 (dd; *J'* = 6 Hz; *J''* = 9 Hz; 2H)

RMN de ¹³C (DMSO-D₆, δ, ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,85 (CH₂); 47,73 (CH₂); 52,71 (CH); 55,35 (CH₃); 116,63 (2CH); 116,18 (d; *J*² = 21,75 Hz; 2CH); 118,90 (CH); 127,31 (C); 128,36 (C); 129,75 (2CH); 130,49 (d; *J*⁴ = 2,25 Hz; C); 131,53 (d; *J*³ = 9,75 Hz; 2CH); 156,34 (C); 161,05 (C=O); 164,37 (C=O); 165,73 (d; *J*¹ = 252 Hz; C-F); 167,94 (C=O); 189,94 (C=O)

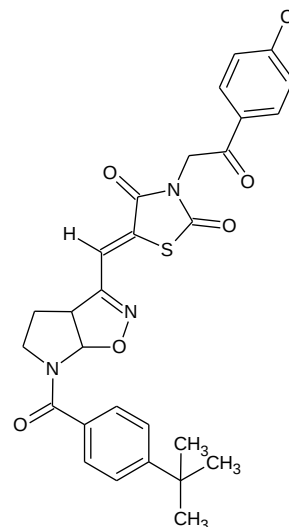
IV – ATR (cm⁻¹), principais sinais.

1.748; 1.689; 1.653; 1.609; 1.597; 1.385; 1.258; 1.228; 1.023; 844; 832

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 510,1135; encontrado 510,0853

3.4.9.17. Síntese da (Z)-5-((6-(4-*tert*-butilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiiazolidina-2,4-diona **57i**

- Sólido branco amorfo
- $C_{28}H_{26}ClN_3O_5S$
- MM: 552,04 g/mol
- Rf: 0,5 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 231,3 – 231,9°C
- Rendimento: 48%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52d** (0,150 g; 0,4997 mmol), o acetato de sódio anidro (0,163 g; 1,6490 mmol); a 3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiiazolidina-2,4-diona **55a** (0,1344 g; 0,4997 mmol) e o ácido acético glacial (1,0 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,132 g, sendo o rendimento obtido 48%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57i

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

1,31 (s; 9H); 2,20 (sl; 2H); 3,03 (sl; 1H); 4,14 (sl; 1H); 4,26 (m; 1H); 5,32 (s; 2H); 6,29 (sl; 1H; rotâmero em 6,77); 7,54 (sl; 5H); 7,67 (d; $J = 9$ Hz; 2H); 8,09 (d; $J = 9$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,77 (CH_2); 30,93 ($3CH_3$); 34,61 (C); 40,15 (CH_2); 47,77 (CH_2); 52,66 (CH); 95,53 (CH); 118,91 (C); 125,13 ($2CH$); 127,55 ($2CH$); 128,37 (C); 129,19 ($2CH$); 130,28 ($2CH$); 132,39 (C); 132,50 (C); 139,48 (C-Cl); 153,34 (C); 156,56 (C); 164,33 (C=O); 167,91 ($2C=O$); 190,48 (C=O)

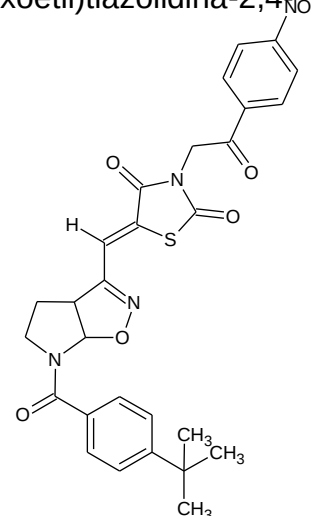
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

3.035; 2.961; 1.742; 1.684; 1.644; 1.642; 1.588; 1.223; 1.146; 838; 730

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 552,1359; encontrado 552,1356

3.4.9.18. Síntese da (Z)-5-((6-(4-*tert*-butilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)tiiazolidina-2,4-diona **57k**

- Sólido amorfo castanho-alaranjado
- $C_{28}H_{26}N_4O_7S$
- MM: 562,59 g/mol
- Rf: 0,55 (AcOEt/hexano 7:3)
- PF: 204,5°C
- Rendimento: 80%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52d** (0,1 g; 0,3329 mmol), o acetato de sódio anidro (0,109 g; 1,1052 mmol); a 3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)tiiazolidina-2,4-diona **55b** (0,093 g; 0,3329 mmol) e o ácido acético glacial (0,67 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em acetato de etila seguida de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,15 g, sendo o rendimento obtido 80%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57k

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.)

1,32 (s, 9H); 2,21 (m, 2H); 3,19 (sl, 1H); 4,02 (t, $J = 9\text{Hz}$, 1H); 4,50 (sl, 1H); 6,26 (sl, 1H); 7,33 (s, 1H); 7,45 (d, $J = 7,5\text{Hz}$, 2H); 7,62 (sl, 2H); 8,14 (d, $J = 8,7\text{Hz}$, 2H); 8,35 (d, $J = 8,7\text{ Hz}$, 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.)

27,0 (CH_2); 31,1 (CH_3); 34,89 (CH); 43,0 (C); 47,4 (CH_2); 52,0 (CH_2); 95,5 (CH); 117,8 (CH); 124,1 (CH); 125,36 (CH); 127,89 (CH); 129,28 (CH); 129,93 (C); 131,7 (C); 138,3 (C); 150,9 ($C=N$); 154,4 ($C=O$); 164,6 ($C-NO_2$); 167,94 ($C=O$); 170,95 ($C=O$); 188,5 ($C=O$)

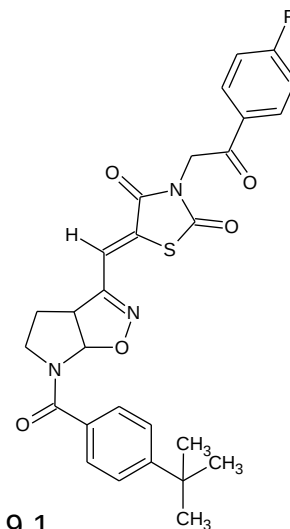
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

3.035; 2.970; 2.940; 2.872; 1.744; 1.685; 1.645; 1.611; 1.530; 1.408; 1.345; 853

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 563,1594; encontrado 563,1593

3.4.9.19. Síntese da (Z)-5-((6-(4-*tert*-butilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiiazolidina-2,4-diona **57l**

- Sólido branco amorfo
- $C_{28}H_{26}FN_3O_5S$
- MM: 535,58 g/mol
- Rf: 0,45 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 222,3 – 223,6°C
- Rendimento: 63%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52d** (0,170 g; 0,5663 mmol), o acetato de sódio anidro (0,1846 g; 1,8687 mmol); a 3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiiazolidina-2,4-diona **55c** (0,1432 g; 0,5663 mmol) e o ácido acético glacial (1,12 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,1614 g, sendo o rendimento obtido 63%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57l

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

1,31 (s; 9H); 2,21 (sl; 2H); 3,03 (sl; 1H); 4,15 (sl; 1H); 4,26 (m; 1H); 5,31 (s; 2H); 6,29 (sl; 1H; rotâmero em 6,77); 7,43 (ft; $J'=J''= 6$ Hz; 2H); 7,54 (m; 5H); 8,18 (dd; $J'= 6$ Hz; $J''= 9$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,14 (CH_2); 30,94 ($3CH_3$); 34,63 (C); 43,28 (CH_2); 47,73 (CH_2); 52,70 (CH); 95,53 (CH); 116,19 (d; $J_2= 21,75$ Hz; 2CH); 118,90 (CH); 124,14 (2CH); 127,55 (2CH); 128,41 (2CH); 130,50 (d; $J_4= 3$ Hz; C); 131,54 (d; $J_3= 9,75$ Hz; 2CH); 132,51 (C); 153,31 (C); 156,47 (C); 164,37 (C=O); 165,74 (d; $J_1= 252$ Hz; C-F); 167,94 (2C=O); 189,95 (C=O)

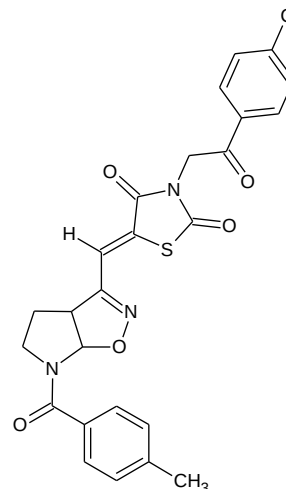
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

2.968; 1.743; 1.694; 1.684; 1.647; 1.613; 1.597; 1.225; 1.116; 843

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 536,1655; encontrado 536,1664

3.4.9.20. Síntese da (Z)-5-((6-(4-metilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **57m**

- Sólido cinza amorfo
- $C_{25}H_{20}ClN_3O_5S$
- MM: 509,96 g/mol
- Rf: 0,36 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 207,9 – 208,5°C
- Rendimento: 53%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52e** (0,100 g; 0,387101 mmol), o acetato de sódio anidro (0,086 g; 1,2774 mmol); a 3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **55a** (0,104 g; 0,3871 mmol) e o ácido acético glacial (0,75 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,1048 g, sendo o rendimento obtido 53%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57m

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,20 (sl; 2H); 2,36 (s; 3H); 3,02 (sl; 1H); 4,14 (sl; 1H); 4,27 (m; 1H); 5,32 (s; 2H); 6,27 (sl; 1H; rotâmero em 6,72); 7,30 (d; $J = 6$ Hz; 2H); 7,53 (m; 3H); 7,68 (d; $J = 9$ Hz; 2H); 8,10 (d; $J = 9$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

20,27 (CH_3); 27,61 (CH_2); 43,39 (CH_2); 52,23 (CH_2); 95,53 (CH); 95,53 (CH); 118,90 (CH); 127,69 (2CH); 128,37 (C); 128,87 (2CH); 129,19 (2CH); 130,28 (2CH); 132,39 (C); 132,46 (C); 139,48 (C-Cl); 140,46 (C); 156,47 (C); 164,33 (C=O); 167,91 (2C=O); 190,48 (C=O)

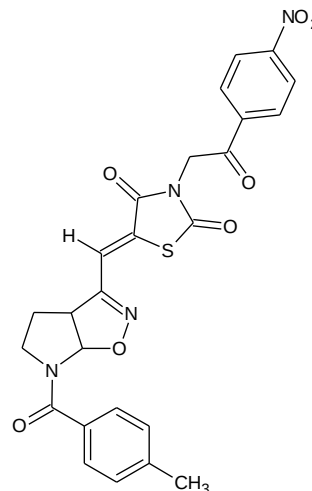
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

2.942; 1.742; 1.695; 1.683; 1.644; 1.612; 1.588; 1.381; 1.221; 726

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 510,0890; encontrado 510,0842

3.4.9.21. Síntese da (Z)-5-((6-(4-metilbenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrólo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **57n**

- Sólido marrom amorfo
- $C_{25}H_{20}N_4O_7S$
- MM: 520,51 g/mol
- Rf: 0,13 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 199°C
- Rendimento: 71%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolíico **52e** (0,120 g; 0,4646 mmol), o acetato de sódio anidro (0,103 g; 1,5331 mmol); a 3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **55b** (0,130 g; 0,4646 mmol) e o ácido acético glacial (0,9 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,1725 g, sendo o rendimento obtido 71%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57n

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 400 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,21 (sl; 2H); 2,37 (s; 3H); 3,01 (sl; 1H); 4,14 (sl; 1H); 4,26 (m; 1H); 5,42 (s; 2H); 6,28 (sl; 1H; rotâmero em 6,78); 7,30 (sl; 2H); 7,51 (sl; 2H); 7,55 (s; 1H); 8,32 (d; $J=8$ Hz; 2H); 8,40 (d; $J=8$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 100 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

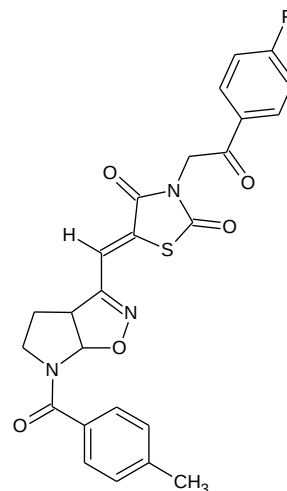
20,92 (CH_3); 27,14 (CH_2 ; rotâmero em 28,30); 43,16 (CH_2 ; rotâmero em 47,03); 48,06 (CH_2); 52,31 (CH); 95,48 (CH; rotâmero em 92,61); 118,97 (CH); 123,98 (2CH); 127,66 (2CH); 128,25 (C); 128,81 (2CH); 129,87 (2CH); 132,43 (C); 138,20 (C); 140,39 (C); 150,57 (C- NO_2); 156,27 (C); 164,23 (C=O); 167,83 (C=O); 168,83 (C=O); 190,94 (C=O)

IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

2.975; 1.742; 1.687; 1.646; 1.610; 1.523; 1.388; 1.346; 849; 836

3.4.9.22. Síntese da (Z)-5-((6-(4-metilbenzoi)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **57o**

- Sólido cinza amorfo
- $C_{25}H_{20}FN_3O_5S$
- MM: 493,50 g/mol
- Rf: 0,13 (AcOEt/hexano 1:1)
- PF: 199-201°C
- Rendimento: 67%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52e** (0,120 g; 0,4646 mmol), o acetato de sódio anidro (0,103 g; 1,5331 mmol); a 3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **55c** (0,1175 g; 0,4646 mmol) e o ácido acético glacial (0,9 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,1582 g, sendo o rendimento obtido 67%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57o

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 400 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,20 (sl; 2H); 2,36 (s; 3H); 3,02 (sl; 1H); 4,14 (sl; 1H); 4,27 (sl; 1H); 5,32 (s; 2H); 6,28 (1H; rotâmero em 6,76); 7,30 (sl; 2H); 7,44 (ft; $J'=J''=8$ Hz; 2H); 7,54 (m; 3H); 8,18 (dd; $J'=4$ Hz; $J''=12$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 100 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

20,91 (CH_3); 27,13 (CH_2); 43,20 (CH_2); 47,69 (CH_2); 52,23 (CH); 95,44 (CH); 116,12 (d; $J^2=22$ Hz; 2CH); 118,84 (CH); 127,67 (2CH); 128,33 (C); 128,81 (2CH); 130,46 (d; $J^4=2$ Hz; C); 131,49 (d; $J^3=10$ Hz; 2CH); 132,43 (C); 140,40 (C); 156,34 (C); 164,31 (C=O); 164,67 (d; $J^1=252$ Hz; C-F); 167,87 (C=O); 189,88 (C=O)

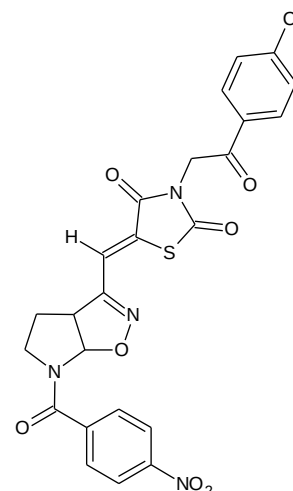
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

2.942; 1.742; 1.695; 1.683; 1.644; 1.612; 1.597; 1.225; 1.145; 843

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 494,1185; encontrado 494,1114

3.4.9.23. Síntese da (Z)-5-((6-(4-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **57p**

- Sólido marrom amorfo
- $C_{24}H_{17}ClN_4O_7S$
- MM: 540,93 g/mol
- Rf: 0,42 (AcOEt/hexano 7:3)
- PF: 224,5 – 225,1°C
- Rendimento: 38%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.5.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52f** (0,150 g; 0,5186 mmol), o acetato de sódio anidro (0,115 g; 1,7113 mmol); a 3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **55a** (0,1395 g; 0,5186 mmol) e o ácido acético glacial (1,0 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,1066 g, sendo o rendimento obtido 38%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57p

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,25 (sl; 2H); 3,07 (dl; $J = 9$ Hz; 1H); 4,01 (sl; 1H); 5,31 (s; 2H); 6,19 (d; $J = 9$ Hz; rotâmero em 6,74 (d; $J = 9$ Hz)); 7,53 (s; 1H); 7,67 (d; $J = 9$ Hz; 2H); 7,85 (dl; $J = 9$ Hz; 2H); 8,08 (d; $J = 9$ Hz; 2H); 8,35 (dl; $J = 9$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,28 (CH_2); 43,58 (CH_2); 47,84 (CH_2); 52,64 (CH); 94,93 (CH); 118,75 (CH); 123,73 (2CH); 129,01 (2CH); 129,26 (2CH); 130,34 (2CH); 130,55 (C); 132,43 (C); 139,57 (C-Cl); 141,45 (C); 143,39 (C- NO_2); 156,56 (C) 164,38 (C=O); 167,94 (2C=O); 190,55 (C=O)

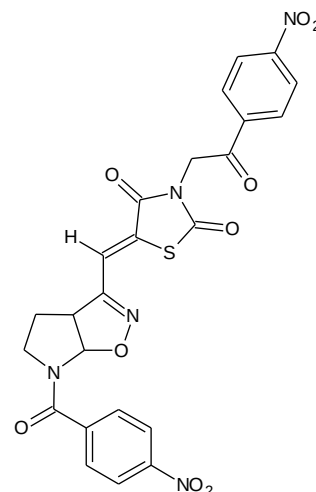
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

3.038; 1.737; 1.677; 1.644; 1.615; 1.588; 1.522; 1.109; 1.380; 841

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 541,0584; encontrado 541,0716

3.4.9.24. Síntese da (Z)-5-((6-(4-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrólo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **57g**

- Sólido laranja amorfo
- $C_{24}H_{17}N_5O_9S$
- MM: 551,48 g/mol
- Rf: 0,41 (AcOEt/hexano 7:3)
- PF: 174,7°C
- Rendimento: 30%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52f** (0,150 g; 0,5186 mmol), o acetato de sódio anidro (0,115 g; 1,7113 mmol); a 3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **55b** (0,1453 g; 0,5186 mmol) e o ácido acético glacial (1,0 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,0857 g, sendo o rendimento obtido 30%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57g

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,26 (sl; 2H); 3,08 (d; $J = 9$ Hz; 1H); 4,11 (sl; 1H); 4,30 (sl; 1H); 5,41 (s; 2H); 6,20 (d; $J = 6$ Hz; 1H rotâmero em 6,75 (d; $J = 9$ Hz)); 7,54 (s; 1H); 7,86 (d; $J = 6$ Hz; 2H); 8,34 (m; 6H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,36 (CH_2); 43,56 (CH_2); 45,58 (CH_2); 52,70 (CH); 94,99 (CH); 118,86 (CH); 123,76 (CH); 129,09 (CH); 130,55 (C); 141,43 (2C); 148,45 (2C- NO_2); 156,57(C); 164,33 (C=O); 167,92 (2C=O); 190,55 (C=O)

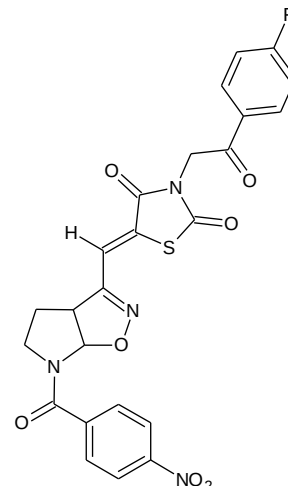
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

1.748; 1.690; 1.678; 1.652; 1.618; 1.602; 1.522; 1.347; 833

HRMS (MALDI-TOF) m/z : $[M+1]$ calculado 552,0819; encontrado 552,0688

3.4.9.25. Síntese da (Z)-5-((6-(4-nitrobenzoi)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrol[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **57r**

- Sólido bege escuro amorfo
- $C_{24}H_{17}FN_4O_7S$
- MM: 524,47 g/mol
- Rf: 0,47 (AcOEt/hexano 7:3)
- PF: 225,4°C
- Rendimento: 50%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52f** (0,145 g; 0,5013 mmol), o acetato de sódio anidro (0,1115 g; 1,6542 mmol); a 3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **55c** (0,1268 g; 0,5013 mmol) e o ácido acético glacial (1,0 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol e posteriormente metanol, seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,1318 g, sendo o rendimento obtido 50%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57r

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,25 (sl; 2H); 3,09 (sl; 1H); 4,11 (sl; 1H); 4,30 (sl; 1H); 5,31 (sl; 2H); 6,19 (d; $J=3$ Hz; 1H; rotâmero em 6,75); 7,42 (ft; $J'=J''=9$ Hz; 2H); 7,53 (s; 1H); 7,85 (d; $J=9$ Hz; 2H); 8,16 (dd; $J'=9$ Hz; $J''=6$ Hz; 2H); 8,35 (d; $J=9$ Hz; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

22,06 (CH_2 ; rotâmero em 23,38); 43,54 (CH_2); 47,79 (CH_2 ; rotâmero em 46,96); 52,71 (CH ; rotâmero em 50,89); 94,91 (CH); 116,26 (d; $J^2=21,75$ Hz; 2CH); 118,73 (CH); 123,74 (2CH); 129,09 (2CH); 130,51 (C); 130,55 (C); 131,59 (d; $J^3=9,75$ Hz; 2CH); 141,42 (C); 148,45 (C- NO_2); 156,56 (C); 164,07 (C=O); 166,18 (d; $J^1=266,25$ Hz; C-F); 167,92 (2C=O); 190,00 (C=O)

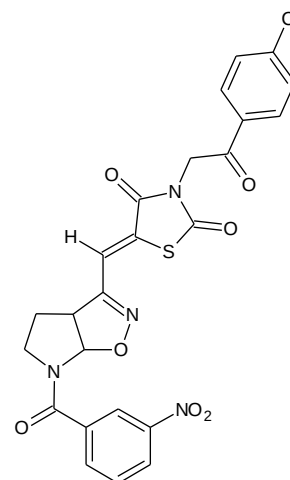
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

1.745; 1.684; 1.61; 1.624; 1.597; 1.522; 1.348; 1.230; 840; 828

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 525,0880; encontrado 525,0897

3.4.9.26. Síntese da (Z)-5-((6-(3-nitrobenzoi)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrolo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **57s**

- Sólido bege escuro amorfo
- $C_{24}H_{17}ClN_4O_7S$
- MM: 540,93 g/mol
- Rf: 0,42 (AcOEt/hexano 7:3)
- PF: 204,6 – 205,7°C
- Rendimento: 61%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolinico **52g** (0,120 g; 0,4148 mmol), o acetato de sódio anidro (0,0923 g; 1,3688 mmol); a 3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **55a** (0,1116 g; 0,4148 mmol) e o ácido acético glacial (0,8 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em etanol e posteriormente metanol, seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,1367 g, sendo o rendimento obtido 61%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57s

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,24 (sl; 1H); 3,09 (sl; 1H); 4,14 (sl; 1H); 4,30 (sl; 1H); 5,31 (s; 2H); 6,26 (d; $J=6$ Hz; 1H; rotâmero em 6,74); 7,53 (s; 1H); 7,67 (d; $J=9$ Hz; 2H); 7,82 (t; $J=6$ Hz; 1H); 8,03 (s; 1H); 8,09 (d; $J=9$ Hz; 2H); 8,40 (m; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,14 (CH_2); 43,61 (CH_2); 47,83 (CH_2); 52,72 (CH); 95,08 (CH); 118,77 (CH); 122,44 (CH); 125,27 (CH); 128,75 (C); 129,27 (2CH); 130,34 (2CH); 130,47 (CH); 132,43 (C); 134,22 (CH); 136,85 (C); 139,57 (C-Cl); 147,62 (C- NO_2); 156,55 (C); 164,39 (C=O); 166,94 (C=O); 167,94 (C=O); 190,55 (C=O)

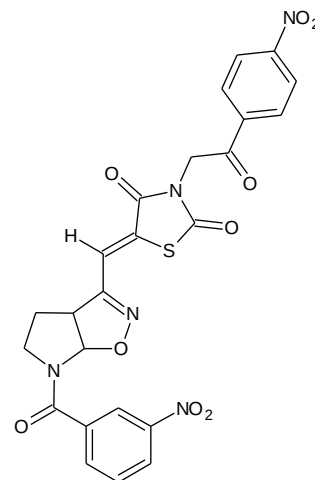
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

2.944; 1.740; 1.683; 1.645; 1.613; 1.587; 1.531; 1.349; 1.224; 885; 729; 720

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 541,0584; encontrado 541,0651

3.4.9.27. Síntese da (Z)-5-((6-(3-nitrobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrólo[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **57t**

- Sólido laranja amorfo
- $C_{24}H_{17}N_5O_9S$
- MM: 551,48 g/mol
- Rf: 0,45 (AcOEt/hexano 7:3)
- PF: 171,4 – 171,8°C
- Rendimento: 75%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.4.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolírico **52g** (0,120 g; 0,4148 mmol), o acetato de sódio anidro (0,0923 g; 1,3688 mmol); a 3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **55b** (0,116 g; 0,4148 mmol) e o ácido acético glacial (0,8 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em metanol, seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,1716 g, sendo o rendimento obtido 75%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57t

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,26 (sl; 2H); 3,07 (d; $J = 9$ Hz; 1H); 4,14 (sl; 1H); 4,30 (sl; 1H); 5,41 (s; 2H); 6,26 (d; $J = 6$ Hz; 1H; rotâmero em 6,75); 7,54 (s; 1H); 7,82 (tl; $J = 9$ Hz; 1H); 8,05 (dl; $J = 9$ Hz; 1H); 8,35 (m; 6H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,10 (CH_2 ; rotâmero em 28,40); 43,57 (CH_2); 48,16 (CH_2); 52,68 (CH); 95,17 (CH); 118,87 (CH); 122,44 (CH); 124,12 (2CH); 125,28 (CH); 129,97 (2CH); 130,40 (CH); 133,80 (C); 134,25 (CH); 136,84 (C); 138,27 (C); 147,61 (C- NO_2); 156,60 (C); 164,33 (C=O); 167,91 (2C=O); 191,03 (C=O)

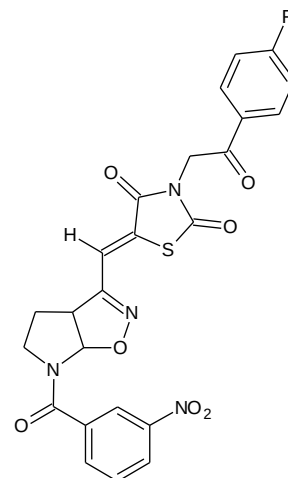
IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

1.749; 1.698; 1.650; 1.651; 1.517; 1.345; 1.221; 710

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 552,0825; encontrado 552,1000

3.4.9.28. Síntese da (Z)-5-((6-(3-nitrobenzoi)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aH-pirrol[3,2-d]isoxazol-3-il)metileno)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **57u**

- Sólido bege claro amorfo
- $C_{24}H_{17}FN_4O_7S$
- MM: 524,47 g/mol
- Rf: 0,45 (AcOEt/hexano 7:3)
- PF: 187,1 – 188,1°C
- Rendimento: 44%



O procedimento da reação é semelhante ao do item 3.5.9.1.

Os reagentes utilizados foram o aldeído isoxazolínic **52g** (0,115 g; 0,3975 mmol), o acetato de sódio anidro (0,0884 g; 1,3117 mmol); a 3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)tiazolidina-2,4-diona **55c** (0,1005 g; 0,3975 mmol) e o ácido acético glacial (0,75 mL). Para a purificação foram feitas lavagens em metanol, seguidas de centrifugações. O sobrenadante foi evaporado e o processo foi repetido, para maior aproveitamento. A massa obtida foi 0,0916 g, sendo o rendimento obtido 44%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 57u

RMN de 1H (DMSO- D_6 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

2,24 (sl; 2H); 3,07 (d; $J = 9$ Hz; 1H); 4,13 (sl; 1H); 4,29 (sl; 1H); 5,30 (s; 2H); 6,25 (d; $J = 9$ Hz; 1H; rotâmero em 6,74); 7,42 (ft; $J' = J'' = 9$ Hz; 2H); 7,52 (s; 1H); 7,82 (t; $J = 9$ Hz; 1H); 8,04 (d; $J = 6$ Hz; 1H); 8,17 (dd; $J' = 6$ Hz; $J'' = 9$ Hz; 2H); 8,37 (m; 2H)

RMN de ^{13}C (DMSO- D_6 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros.

27,06 (CH_2); 43,64 (CH_2); 47,84 (CH_2); 52,77 (CH); 95,15 (CH); 116,32 (d; $J^2 = 22,5$ Hz; 2CH); 118,78 (CH); 122,47 (CH); 125,33 (CH); 128,84 (C); 130,49 (CH); 130,56 (d; $J^4 = 2,25$ Hz; C); 131,64 (d; $J^3 = 9,75$ Hz; 2CH); 134,25 (CH); 136,89 (C); 147,66 (C- NO_2); 156,66 (C); 164,47 (C=O); 165,61 (d; $J^1 = 216$ Hz; C-F); 167,54 (C=O); 168 (2C=O) 190,06 (C=O)

IV – ATR (cm^{-1}), principais sinais.

1.744; 1.684; 1.48; 1.616; 1.598; 1.5354; 1.353; 1.231; 1.145; 887; 723

HRMS (MALDI-TOF) m/z: $[M+1]$ calculado 525,0880; encontrado 525,0851

4. CAPÍTULO 2 – SÉRIE 5,6,7,8-TETRAHIDROIMIDAZO[1,2-A]PIRAZINA

4.1. OBJETIVOS

4.1.1. Objetivo Geral

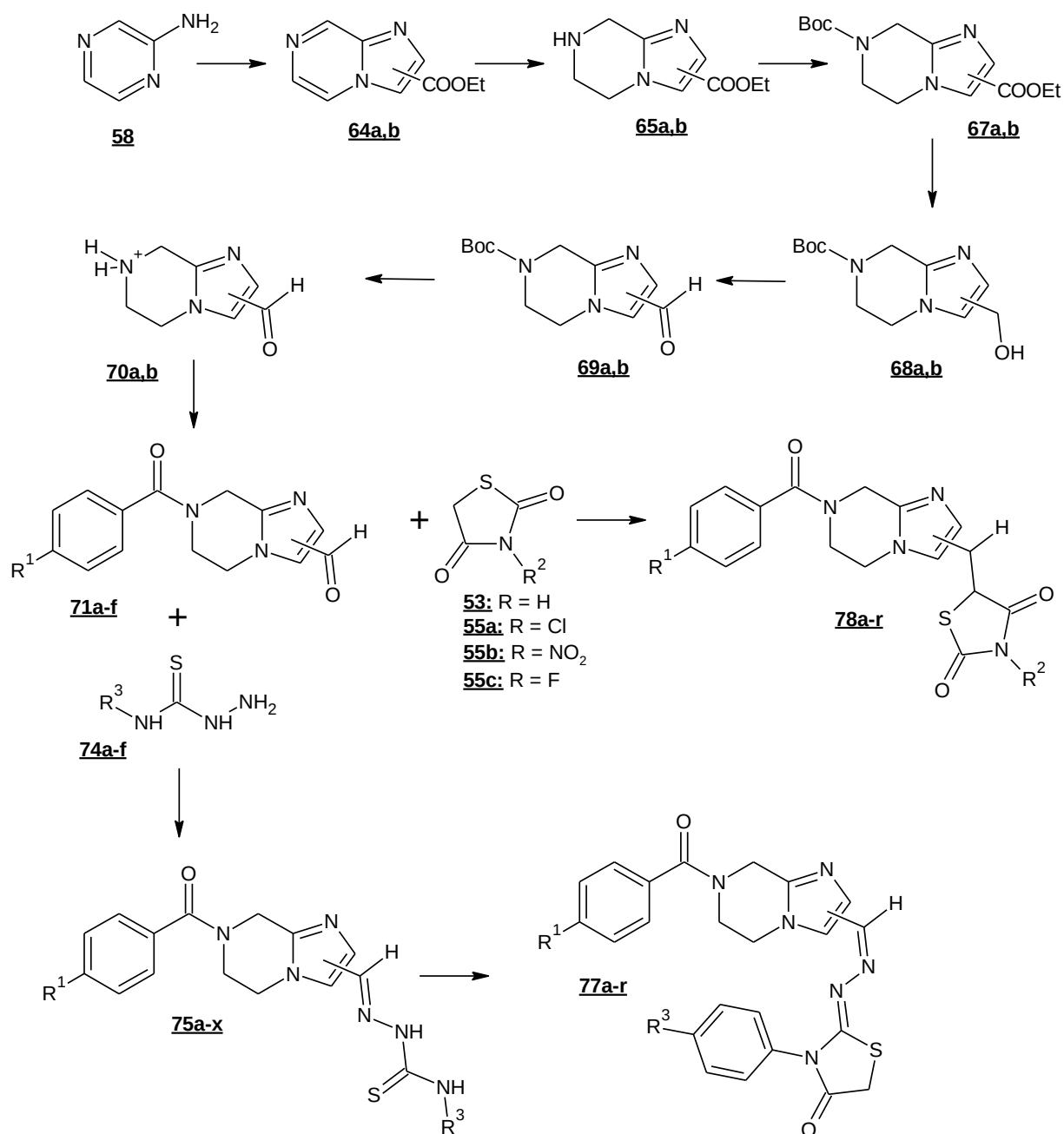
Sintetizar e avaliar a atividade tripanocida de novos derivados híbridos 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiossemicarbazonas, 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidinona e 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidina-2,4-dionas, bem como fazer o estudo de *docking* destas moléculas.

4.1.2. Objetivos Específicos

- a. Síntese da série dos novos derivados híbridos 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiossemicarbazonas **75a-x**, 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidinona **77a,b** e 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidina-2,4-dionas **78a-r**.
- b. Purificação e determinação de propriedades físico-químicas das novas moléculas obtidas.
- c. Elucidação estrutural das novas moléculas através de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (^1H e ^{13}C), no infra-vermelho e espectrometria de massas.

4.2. METODOLOGIA

O Esquema 17 representa a rota genérica da síntese das novas moléculas híbridas 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiossemicarbazona **75a-x**, 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidinona **77a,b** e 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidina-2,4-diona **78a-r**. O material de partida é a 2-aminopirazina **58** que reage com o bromopiruvato **59** ou o 2-cloro-3-etoxi-3-oxoprop-1-em-1-olate de potássio **63** para formar o núcleo imidazo[1,2-a]pirazina com o grupamento éster na posição 2 e 3 **64a,b**, respectivamente. Em seguida foi feita a redução do núcleo pirazina utilizando formato de amônio e Pd⁰/C e o produto dessa reação **65a,b** sofreu uma reação de proteção do átomo de Nitrogênio pelo grupamento Boc. Posteriormente as moléculas **67a,b** sofreram redução do grupamento éster, utilizando o NaBH₄ como agente redutor. Os álcoois **68a,b** obtidos passaram por uma reação de oxidação branda com MnO₂, sendo assim obtidos os aldeídos **69a,b** que passaram por uma reação de hidrólise para a remoção do grupamento Boc e em seguida uma *N*-benzoílação foi realizada para a obtenção dos respectivos aldeídos 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazínicos **71a,f**. Estes aldeídos foram condensados com derivados de tiossemicarbazidas originando as respectivas moléculas híbridas 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiossemicarbazona **75a,x**. Para a síntese dos derivados híbridos 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidinona **77a,b**, as tiossemicarbazonas **75a,x** sofreram uma reação de ciclização com o bromoacetato de etila **76**. Por fim, os últimos derivados sintetizados, 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidina-2,4-diona **78a,r**, foram obtidos através da condensação de Knoevenagel entre os aldeídos **71a,f** e a tiazolidina-2,4-diona **53** e derivados **55a-c**.



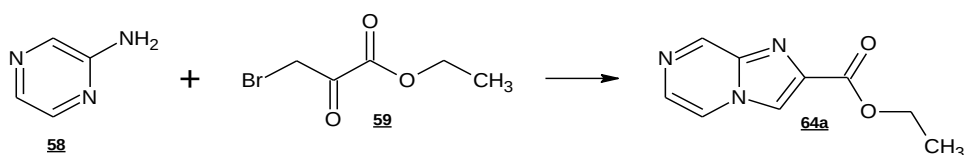
Esquema 17. Rota genérica da obtenção dos derivados híbridos 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiossemicarbazona **75a-x**, 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidinona **77a,b** e 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidina-2,4-diona **78a-r**.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A rota sintética deste trabalho tem como núcleo a 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina substituída nas posições 2 e 3. Os reagentes de partida imidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxilato de etila **64a** e imidazo[1,2-a]pirazina-3-carboxilato de etila **64b** foram sintetizados a partir da 2-aminopirazina **58** e, passaram pelas mesmas etapas na rota sintética para obtenção das moléculas finais **75a-x**, **77a,b** e **78a-r**.

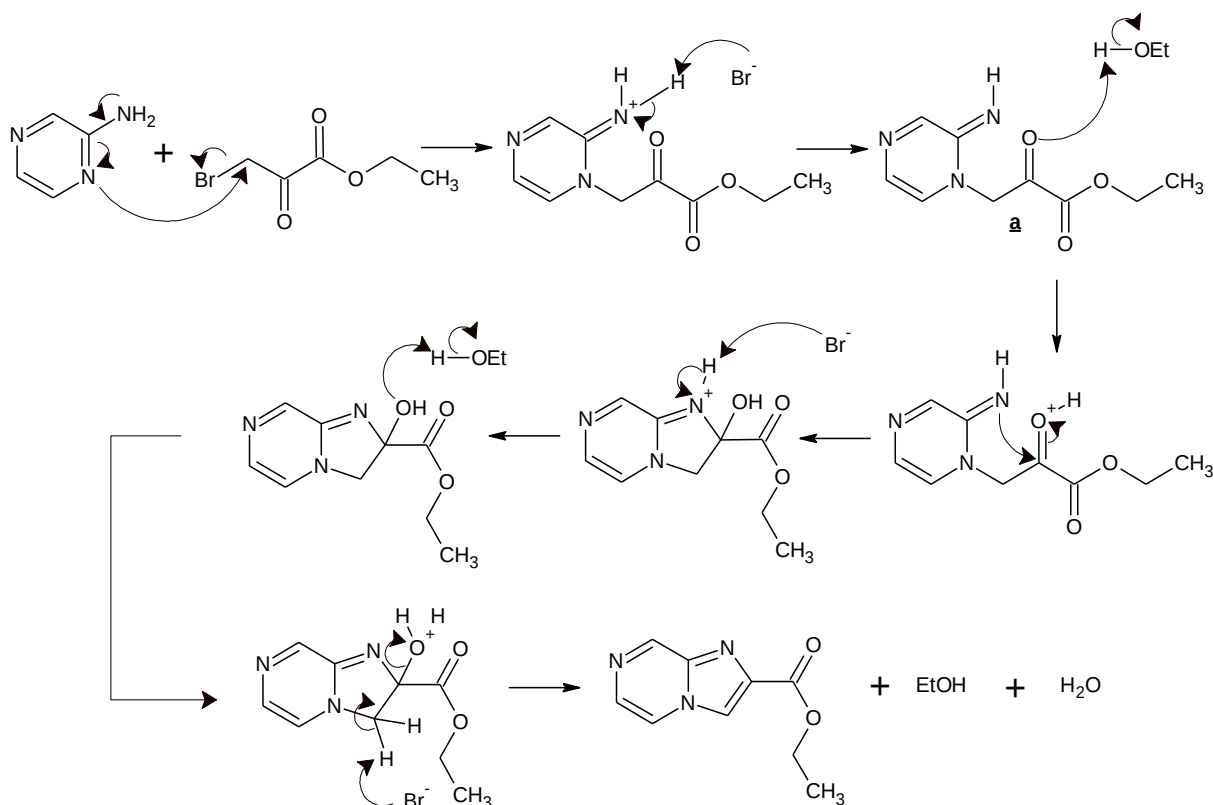
4.3.1. Obtenção do núcleo imidazo[1,2-a]pirazina substituído com a função éster nas posições C2 e C3.

4.3.1.1. Obtenção do imidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxilato de etila **64a**



O núcleo imidazo[1,2-a]pirazina pode ser sintetizado de algumas maneiras mas, o procedimento utilizado na síntese do composto substituído com éster na posição 3 (obtenção da molécula **64a**) foi a partir da reação entre a 2-aminopirazina **58** e o bromopiruvato de etila **59**. Este último, segundo estudos, apresenta uma boa reatividade perante α -halocarbonil compostos utilizados para síntese deste tipo de reação, fazendo a comparação utilizando as mesmas condições (MCDONALD; PEESE, 2015).

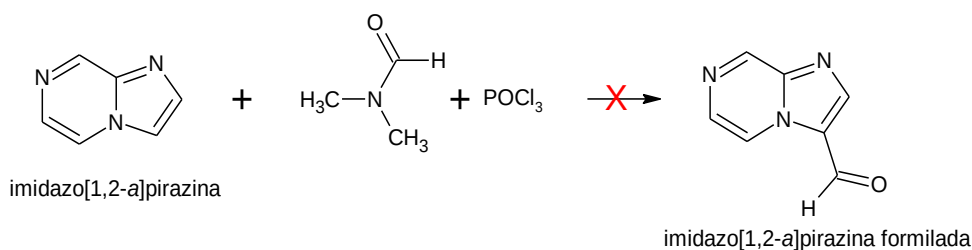
Para formar o núcleo imidazo[1,2-a]pirazina, a partir dos reagentes citados anteriormente, há a formação de uma imina intermediária seguida de ciclização e eliminação de uma molécula de água. O possível mecanismo de reação está representado no Esquema 18. A reação se processa inicialmente por uma reação de substituição nucleofílica seguida de uma ciclização intramolecular. Inicialmente ocorre uma alquilação com eliminação de HBr e, o produto intermediário **a** formado é protonado em meio etanólico e então ocorre o processo de ciclização intramolecular com troca de hidrogênios e a eliminação de uma molécula de água (RAO et al., 2018).



Esquema 18. Mecanismo de reação da formação da imidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxilato de etila **64a** a partir da 2-aminopirazina **58** e do bromopiruvato de etila **59**.

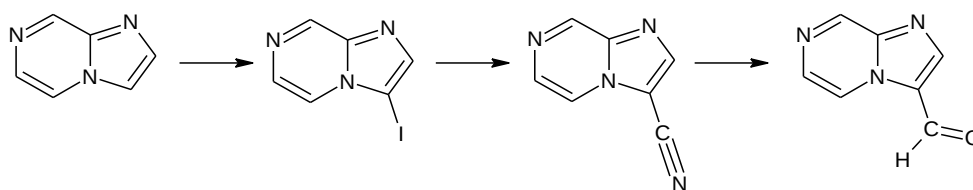
4.3.1.2. Obtenção do imidazo[1,2-a]pirazina-3-carboxilato de etila **64b**

O objetivo inicial para a modelização da série em C3 era a obtenção direta da funcionalidade aldeído. Alguns procedimentos foram seguidos com este objetivo. A primeira tentativa foi através da reação de formilação de Vilsmeier-Haak a partir da imidazo[1,2-a]pirazina e DMF (Esquema 19), visto que a posição C3, através da ressonância eletrônica da molécula é uma região bastante rica em elétrons e ideal para substituições. Entretanto não foi observada a formação do produto esperado através de análise em UPLC-MS.



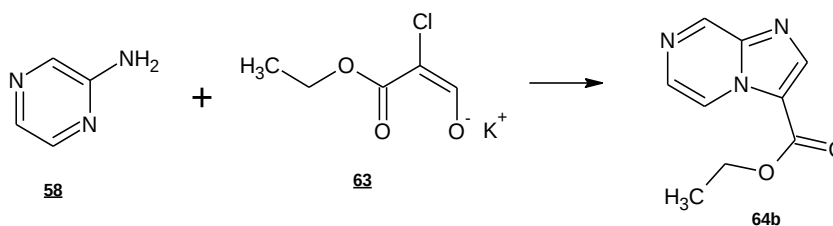
Esquema 19. Esquema reacional de formilação de Vilsmeier-Haak da imidazo[1,2-a]pirazina.

A segunda estratégia (Esquema 20) utilizada para chegar à imidazo[1,2-a]pirazina com a função aldeído em C3 foi a partir da iodinação da imidazo[1,2-a]pirazina, seguida da cianação e então, com a nitrila obtida na posição C3, este produto sofreria uma reação de redução com o DIBAL-H dando origem a função aldeído nesta posição. Entretanto, chegamos a conclusão que não era uma rota sintética favorável visto os baixíssimos rendimentos verificados via UPLC-MS.



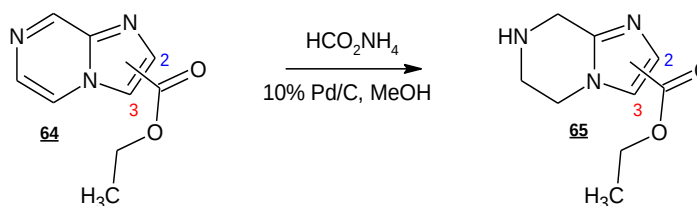
Esquema 20. Esquema geral da obtenção da imidazo[1,2-a]pirazina com aldeído em C3 a partir da reação de obtenção da nitrila na mesma posição e redução desta com o DIBAL-H.

A síntese da molécula **64b** foi feita a partir da reação do sal 2-cloro-3-etoxi-3-oxoprop-1-em-1-olate de potássio **63** com a 2-aminopirazina **58** (Esquema 21). O sal de potássio foi sintetizado previamente a partir de uma reação com formato de etila **60**, *tert*-butóxido de potássio **61** e 2-cloroacetato de etila **62**. A reação se precessa de maneira semelhante ao mecanismo proposto para a formação do imidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxilato de etila **64a**, presente no Esquema 19 (SAXTY et al., 2015).



Esquema 21. Esquema geral da obtenção do imidazo[1,2-a]pirazina-3-carboxilato de etila **64b**.

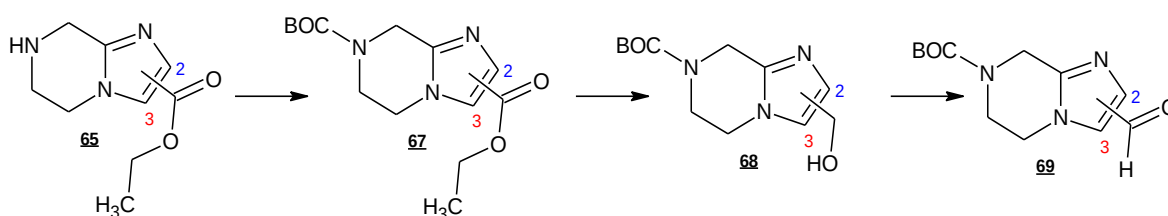
4.3.2. Redução do núcleo imidazol da imidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxilato de etila **64a** e imidazo[1,2-a]pirazina-3-carboxilato de etila **64b**



As moléculas **64a** e **64b** sofreram redução das ligações duplas da porção pirazina catalisada por paládio. O formato de amônio tem sido empregado como um agente catalítico de transferência de hidrogênio. Nestas condições o hidrogênio é formado *in situ*. Este procedimento é muito utilizado para reduções de grupamentos nitro para grupamento amina. Entretanto, foi percebido certa seletividade na redução de compostos, sendo preferencial a redução de ligações entre carbono-nitrogênio quando comparado à moléculas que também possuíam ligações carbono-oxigênio (GAVARA et al., 2010; RAM; EHRENKAUFER, 1984).

Assim como descrito na literatura, os rendimentos obtidos nesta reação foram bastante significativos, sendo superior a 93%, independente da posição de substituição da molécula. Entretanto, nesse caso, o ideal é a rápida utilização do produto reduzido devido à uma instabilidade da molécula, possivelmente devido a presença do nitrogênio desprotegido da porção pirazina.

4.3.3. Obtenção do aldeído em C2 e C3: Síntese do 2-formil-5,6-dihidroimidazo[1,2-a]pirazina-7(8H)-carboxilato de *tert*-butila **69a** e do 3-formil-5,6-dihidroimidazo[1,2-a]pirazina-7(8H)-carboxilato de *tert*-butila **69b**



A etapa seguinte da rota sintética foi a proteção da amina em N7 com o grupo protetor Boc. O di-*tert*-butildicarbonato **66** ou Anidrido Boc é um grupamento protetor muito utilizado para reações de proteção de aminas. Este grupamento proporciona às moléculas maior estabilidade favorecendo, assim, a continuidade da rota sintética e, também é de fácil remoção por hidrólise. Essa reação é de fácil execução e se processou em ambiente anidro sob atmosfera de nitrogênio, sendo a trietilamina utilizada como base e diclorometano anidro como solvente.

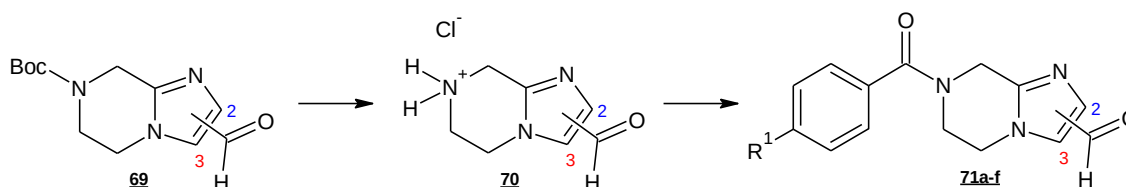
Posteriormente os compostos **64a,b** sofreram uma redução com LiAlH_4 , em THF e posteriormente os álcoois **68a,b** obtidos sofreram uma oxidação branda com MnO_2 e então finalmente os aldeídos **69a,b** foram obtidos. Algumas tentativas de redução

direta do da função éster (compostos **67a,b**) diretamente para a função aldeído (compostos **69a,b**) utilizando o DIBAL-H foram feitas, porém não foi obtido sucesso. Os respectivos rendimentos da obtenção dos compostos descritos acima estão presentes na Tabela 06.

Tabela 06. Rendimentos dos compostos **67**, **68** e **69**.

Compostos	Substituição na posição 2 (série a)	Substituição na posição 3 (série b)
67	91%	86%
68	80%	87%
69	81%	85%

4.3.4. Obtenção dos derivados aldeídos *N*-benzoíladados **71a,b**



Após obtenção da função aldeído em C2 ou C3, a etapa seguinte da rota sintética foi a desproteção do *N*7. A remoção do grupamento Boc se deu por hidrólise ácida, utilizando uma solução HCl 1 M em dioxano tendo diclorometano e metanol como solventes da reação (VENKATESAN et al., 2006). A reação se processou sob aquecimento e não foi possível determinar o rendimento visto que o cloridrato **70** formado não foi isolado e nem detectado pelo UPLC-MS.

Para a formação dos aldeídos *N*-benzoíladados **71a,f**, os compostos **70a,b** reagiram com cloretos de benzoíla *para*-substituídos em meio anidro, sendo o solvente dimetilformamida (DMF) e a trietilamina (TEA) como base. A reação ocorreu em temperatura ambiente em 30 minutos. A purificação foi feita por cromatografia flash automática.

Todos os derivados **71a,f** foram devidamente identificados e tiveram sua formação confirmada através dos espectros. Na Figura 29, correspondente ao espectro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H da molécula **71f**, é possível verificar a presença de alguns picos característicos que confirmam a obtenção da mesma. O pico que aparece em 3,81 ppm corresponde ao átomo de hidrogênio da metila da porção benzoíla, também é possível verificar os dois dubletes referentes aos átomos de hidrogênio pertencentes ao anel aromático *para* substituído em 7,02 ppm

e 7,49 ppm. Em 7,90 ppm é possível verificar a presença do hidrogênio na região de aromáticos, que corresponde ao hidrogênio da porção imidazolidina e, em 9,79 ppm é possível verificar a presença de um hidrogênio bastante desblindado que corresponde ao átomo de hidrogênio da função aldeído.

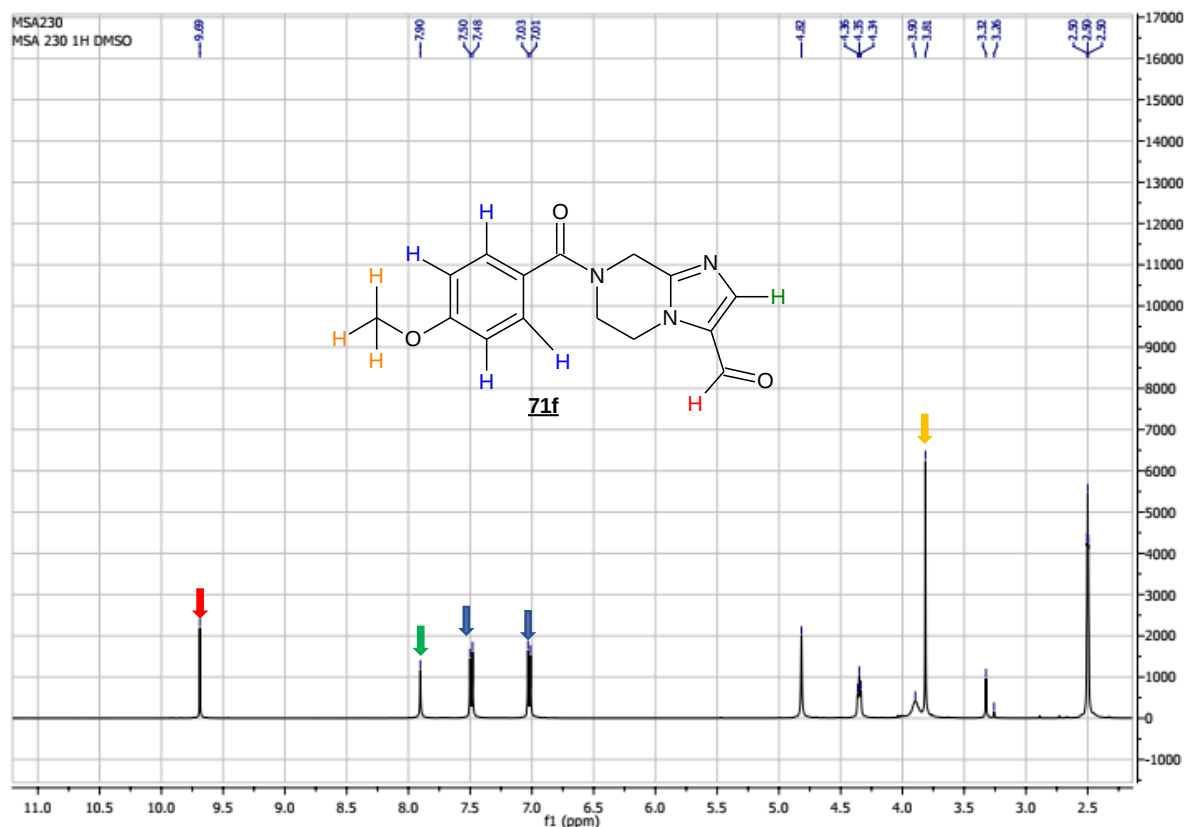


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H da molécula **71f** obtido no solvente DMSO- d_6 .

A Figura 30 apresenta o espectro de RMN de ^{13}C da molécula **71f** e, assim como no espectro de RMN de ^1H , é possível verificar os picos correspondentes aos carbonos presentes na molécula, sendo alguns deles evidenciados por cores. Em 55,25 ppm é possível verificar o pico correspondente ao carbono da metoxila ligado na posição *para* do núcleo aromático. Em evidência também se encontram os picos correspondentes aos 4 carbonos destacados do anel aromático em 113,76 ppm e 129,26 ppm. Neste caso apenas 2 picos são visualizados mas, correspondem aos carbonos aromáticos equivalentes. Em uma região de carbonos bastante desblindados, os picos em 169,64 ppm e 179,49 ppm correspondem, respectivamente, às carbonilas da função amida e da função aldeído, presentes nesta molécula.

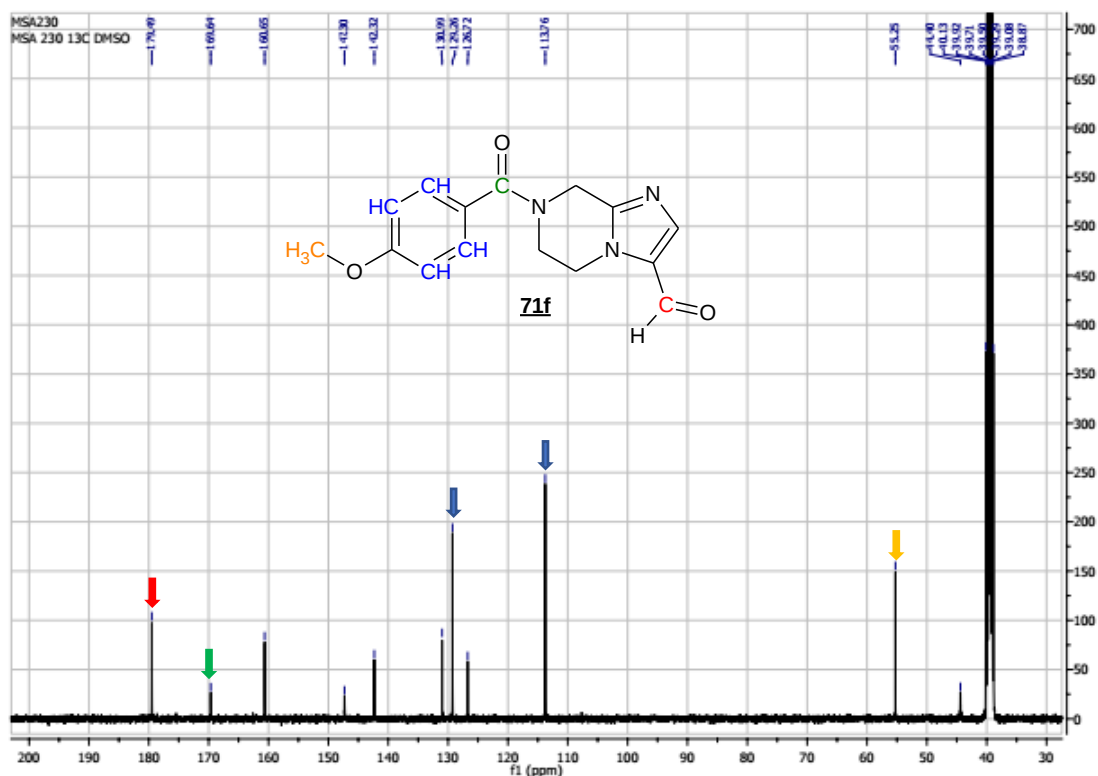
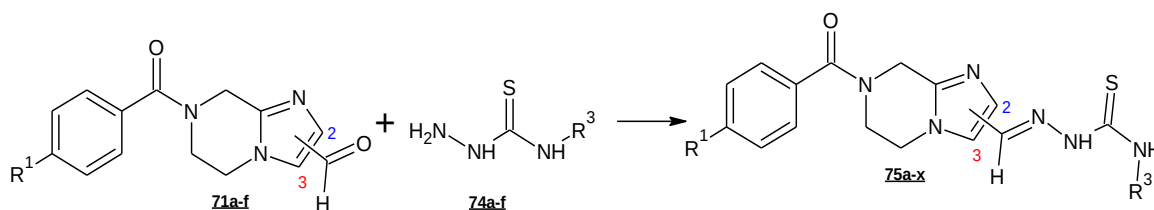


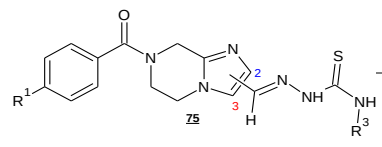
Figura 30. Espectro de RMN de ^{13}C da molécula **71f** obtido no solvente DMSO- d_6 .

4.3.5. Condensação dos aldeídos *N*-benzoíladados **71a-f** com tiossemicarbazidas **74a-f**: Obtenção das moléculas híbridas 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina/tiossemicarabazona **75a-x**.

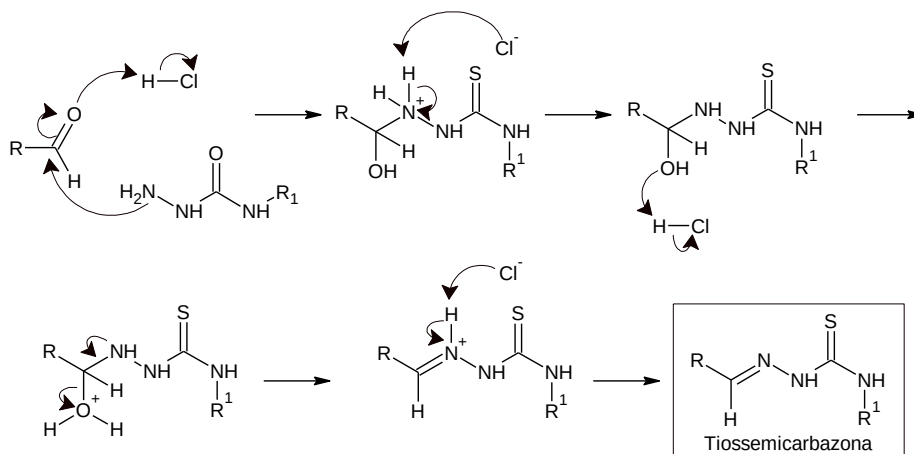


As novas moléculas híbridas 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina/tiossemicarabazona **75a-x** foram sintetizadas a partir da reação de condensação, com catálise ácida, entre os derivados aldeídos *N*-benzoíladados **71a-f** com tiossemicarbazidas **74a-f**. Estas últimas foram sintetizadas a partir da reação entre os fenilisotiocianatos correspondentes **72** e a hidrazina **73**. A reação se passou em meio etanólico e à temperatura ambiente. Todos os produtos obtidos são sólidos e foram purificados por lavagem do filtrado com etanol e/ou metanol. Os rendimentos obtidos foram bastantes satisfatórios e estão apresentados na Tabela 07.

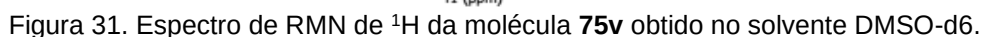
Tabela 07. Rendimento de obtenção das novas moléculas híbridas 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiossemicarabazona **75a-x**.

Compostos 75	R ¹	R ²	Cód.	Rend. (posição 2)	Cód.	Rend. (posição 3)
	NO ₂	H	75a	60%	75m	99%
		Ph	75b	88%	75n	71%
		4-Cl-Ph	75c	73%	75o	89%
		4-F-Ph	75d	73%	75p	88%
		4-OMe-Ph	75e	93%	75q	92%
		4-NO ₂ -Ph	75f	87%	75r	94%
	F	H	75g	87%	75s	81%
		Ph	75h	82%	75t	80%
		4-Cl-Ph	75i	83%	75u	23%
		4-F-Ph	75j	64%	75v	88%
		4-OMe-Ph	75k	86%	75w	86%
		4-NO ₂ -Ph	75l	93%	75x	76%

A reação de condensação entre aldeídos e tiossemicarbazidas, originando tiossemicarbazonas é clássica na química orgânica. A catálise ácida permite que a reação se processe mais rapidamente devido à protonação da carbonila do aldeído favorecendo o ataque da amina livre terminal da função tiossemicarbazina (núcleófilo), sendo no fim eliminada uma molécula de água, como pode ser visto no mecanismo representado no Esquema 22. Na molécula da tiossemicarbazona há a presença da isomeria geométrica, isto quer dizer que pode haver a formação do isômero *Z* ou *E*. Na literatura, estudos demonstram que isto é bastante variável. O grupamento químico ligado à funcionalidade tiossemicarbazona pode influenciar no isômero formado preferencialmente e, também pode haver isomerização destas moléculas quando em solução (ESPÍNDOLA et al., 2015; MARKOVIĆ et al., 2014; TEMPERINI; DOS SANTOS; PAOLI MONTEIRO, 1995).



Esquema 22. Mecanismo geral da formação da tiossemicarbazona pela condensação entre um aldeído e o derivado tiossemicarbazida correspondente, sob catálise ácida.



Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	300	O	2	0	15	Cl	1	0	10	H
C	4	0	100	F	1	0	10					
N	3	0	15	S	2	0	10					

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: all

MSn Iso RI (%): 75.00

DBE Range: -2.0 - 1000.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

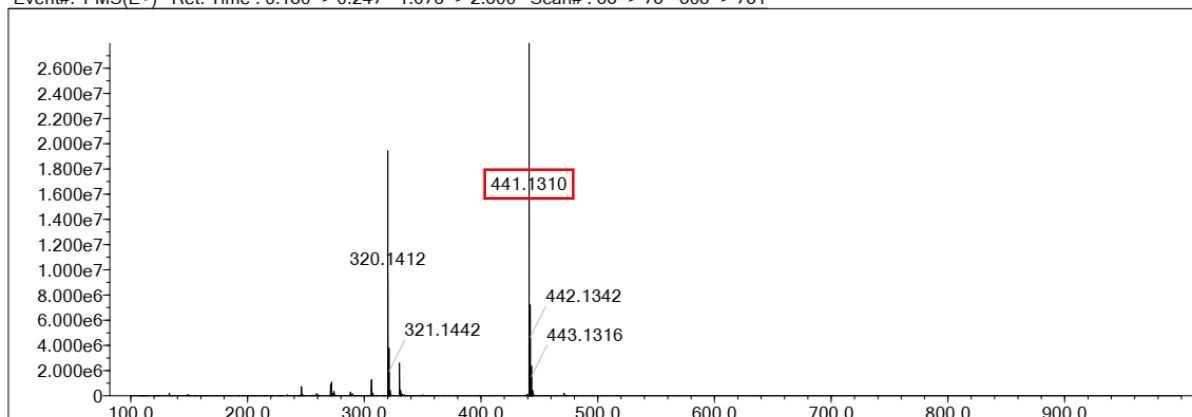
Electron Ions: both

Use MSn Info: no

Isotope Res: 10000

Max Results: 100

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 0.180 -> 0.247 - 1.673 -> 2.500 Scan#: 55 -> 75 - 503 -> 751

Figura 32. Espectro de massas HR-ESI-MS (UFLC-MS (IT-TOF)) do composto **75v**.

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **75v** (Figura 33) podem ser observados alguns picos diagnósticos que confirmam a estrutura da molécula, assim como nas figuras anteriores. Em 45,25 ppm e 142,42 ppm, destacados em rosa, aparecem carbonos que estão presentes na estrutura central, no núcleo imidazo[1,2-*a*]pirazina. Esta molécula possui dois anéis aromáticos substituídos com o átomo de flúor em posição *para*, portanto, devem ser vistos os acoplamentos carbono-flúor e, neste caso, entre 114, 67 ppm e 115,69 ppm encontram-se dois dubletos referentes ao acoplamento *J*3 com constantes 22 Hz e 23 Hz. Também é possível visualizar o forte acoplamento *J*1 carbono-flúor pela presença dos dois dubletos entre 158,58 ppm e 164,26 ppm com constantes 241 Hz e 246 Hz. Em 131,21 ppm é possível caracterizar a presença do do carbono “CH” vinílico da junção do ciclo 5,6,7,8-imidazo[1,2-*a*]pirazina com a funcionalidade tiossemicarbazona. Os picos diagnósticos em 168,74 ppm e 176,52 ppm caracterizam a presença, respectivamente, da carbonila da funcionalidade amida e a tionila da funcionalidade tiossemicarbazona.

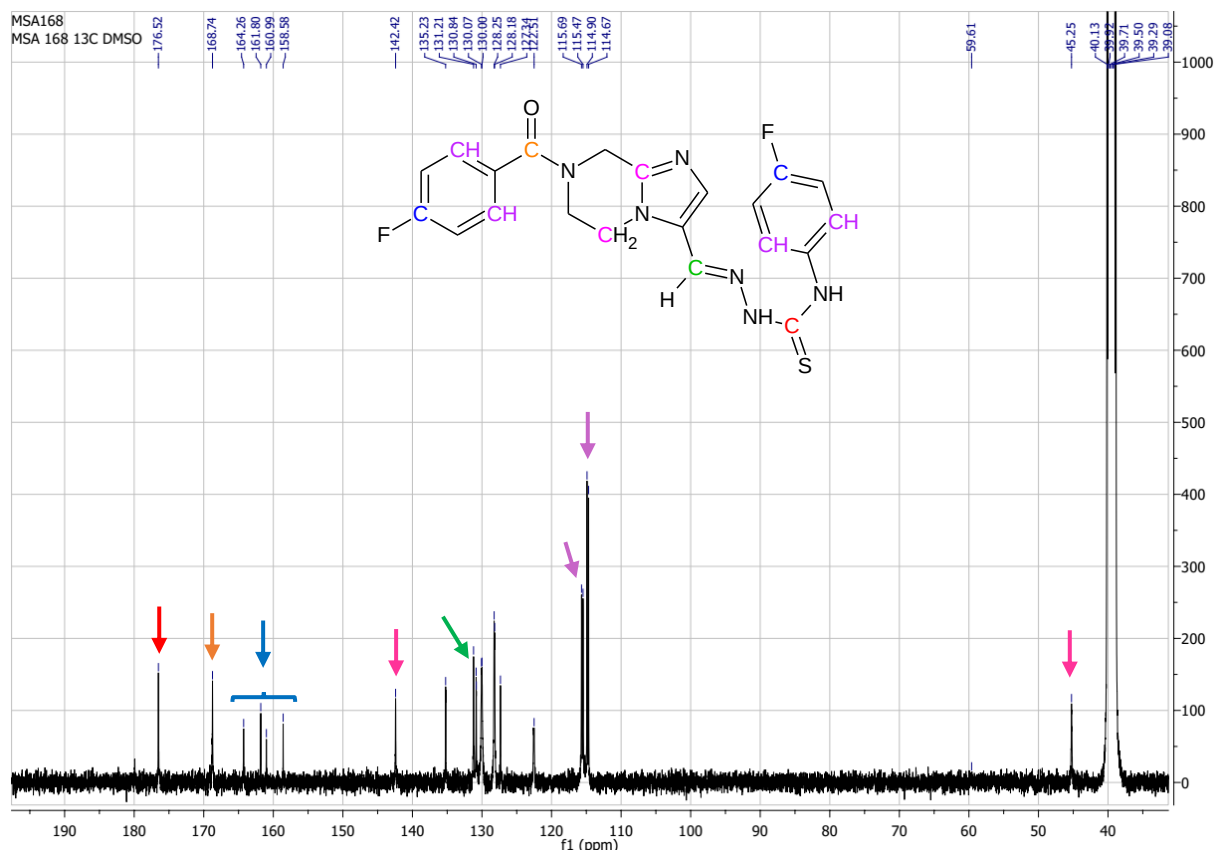
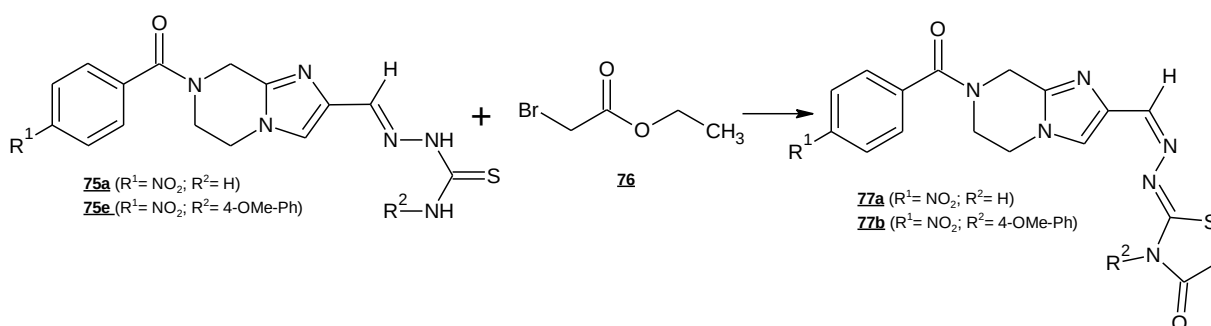


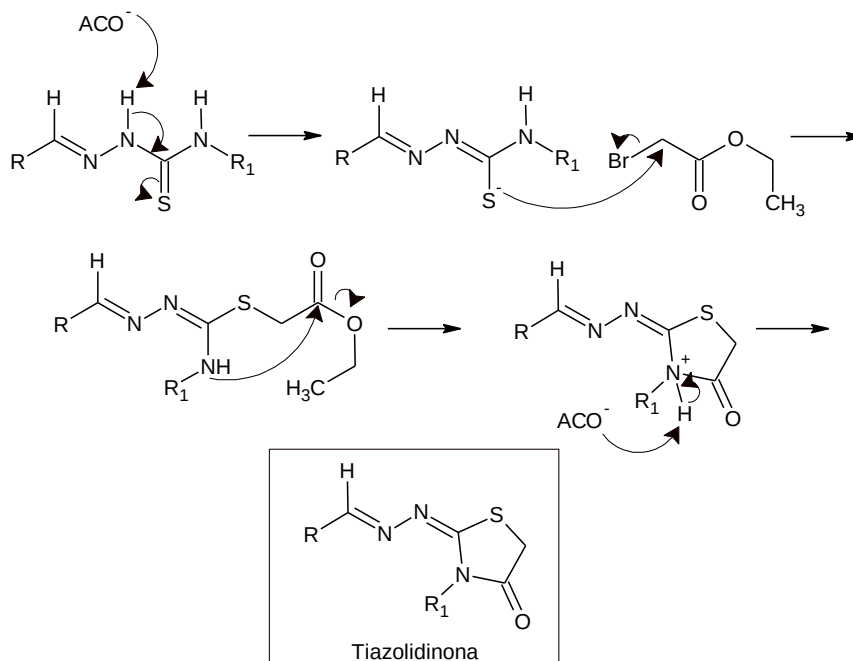
Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C da molécula **75v** obtido no solvente DMSO- d_6 .

4.3.6. Ciclização dos derivados tiossemicarbazona **75a,b**: Obtenção da dos derivados híbridos 5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidinona **77a,b**



A síntese desses compostos foi feita pela ciclização dos derivados com a funcionalidade tiossemicarbazona com bromoacetato de etila **76** em meio etanólico, utilizando acetato de sódio anidro como base à temperatura ambiente, procedimento já descrito na literatura (BENMOHAMMED et al., 2014). Bons rendimentos foram obtidos (Tabela 08). O mecanismo de síntese (Esquema 23) consiste inicialmente na

remoção do hidrogênio ligado ao N2 com deslocalização eletrônica e formação de um tio-ânion. Esse reage diretamente com o carbono- α do bromoacetato de etila, liberando a base brometo no meio reacional. A etapa seguinte é a ciclização do intermediário neutro formado e em seguida a base acetato, presente no meio, retira o próton do nitrogênio com carga formal +1, originando o núcleo tiazolidinona.

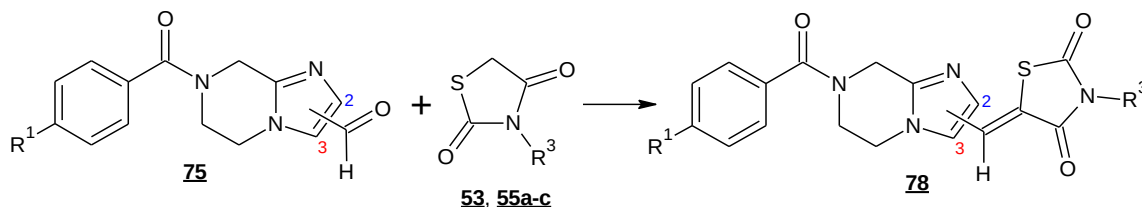


Esquema 23. Mecanismo de síntese do núcleo tiazolidinona a partir da reação do derivado correspondente tiossemicarbazona com o bromoacetato de etila.

Tabela 08. Rendimentos da obtenção dos novos derivados híbridos 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidinona **77**.

Código	Molécula	Rendimento %
<u>77a</u>		63%
<u>77b</u>		42%

4.3.7. Condensação de Knoevenagel: Síntese dos derivados 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidina-2,4-diona **78a-r**



A reação para obtenção dos novos derivados **78a-r** foi uma condensação de Knoevenagel. Essa reação aconteceu entre os derivados aldeídos **71a-f** e a tiazolidina-2,4-diona **53** assim como seus derivados **55a-c**. A reação se processou utilizando como solvente o tolueno em meio a ácido acético e piperidina como catalisadores. Essa reação permaneceu em refluxo por uma hora. Todos os produtos são sólidos e foram purificados por lavagem do sólido com os solventes etanol e metanol, esse último quando necessário, no caso de uma impureza de maior polaridade.

O mecanismo de reação é o mesmo descrito no Esquema 16, visto que no item 3.3.9 a reação de condensação é bastante semelhante, tendo como diferença o solvente e alguns reagentes apenas. Os rendimentos obtidos na obtenção desta série de moléculas foram variados, como pode ser visto na Tabela 09. Algumas moléculas tiveram rendimentos baixos, como o composto **78g** mas em geral os rendimentos foram de moderados à excelentes.

Tabela 09. Rendimento de obtenção das novas moléculas híbridas 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tioazolidina-2,4-diona **78a-r**.

Compostos 78	R ¹	R ³	Cód.	Rend. (posição 2)	Cód.	Rend. (posição 3)
	NO ₂	H	78a	47%	78j	58%
		-(4-Cl)-CH ₂ COPh	78b	76%	78k	67%
		-(4-F)-CH ₂ COPh	78c	44%	78l	44%
		-(4-NO ₂)-CH ₂ COPh	78d	91%	78m	31%
	F	H	78e	72%	78n	60%
		-(4-Cl)-CH ₂ COPh	78f	39%	78o	44%
		-(4-F)-CH ₂ COPh	78g	25%	78p	50%
		-(4-NO ₂)-CH ₂ COPh	78h	36%	78q	42%
	OMe	H	78i	59%	78r	62%

As novas moléculas híbridas **78a-r** tiveram suas estruturas elucidadas através da de espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C , infravermelho e massas. A Figura 34 apresenta o espectro de RMN de ^1H da molécula **78b**. A análise deste espectro confirma a formação da molécula pela presença de todos os hidrogênios evidenciados pelas cores. Entre 3,78 ppm e 4,93 ppm estão presentes os picos correspondentes aos átomos de hidrogênio dos CH_2 presentes na região imidazol do núcleo 5,6,7,8-imidazo[1,2-a]pirazina. Um pouco mais desblindado, em 5,32 ppm, está o sinal correspondente aos hidrogênios do CH_2 da porção acetofenona ligada ao núcleo tiazolidina-2,4-diona. Em 7,50 ppm é possível verificar a presença de um pico pouco intenso que integra para 1 hidrogênio apenas e que corresponde ao hidrogênio vinílico da região de condesação entre os núcleos 5,6,7,8-imidazo[1,2-a]pirazina e tiazolidina-2,4-diona. Na região de campo mais baixo do espectro, região esta de aparecimento de prótons aromáticos, é possível ver um conjunto de sinais, entre eles alguns dubletos, que correspondem aos átomos aromáticos presentes na molécula. Estes átomos estão destacados em verde, na figura, e aparecem no intervalo de 7,67 ppm a 8,34 ppm como pode ser verificado abaixo.

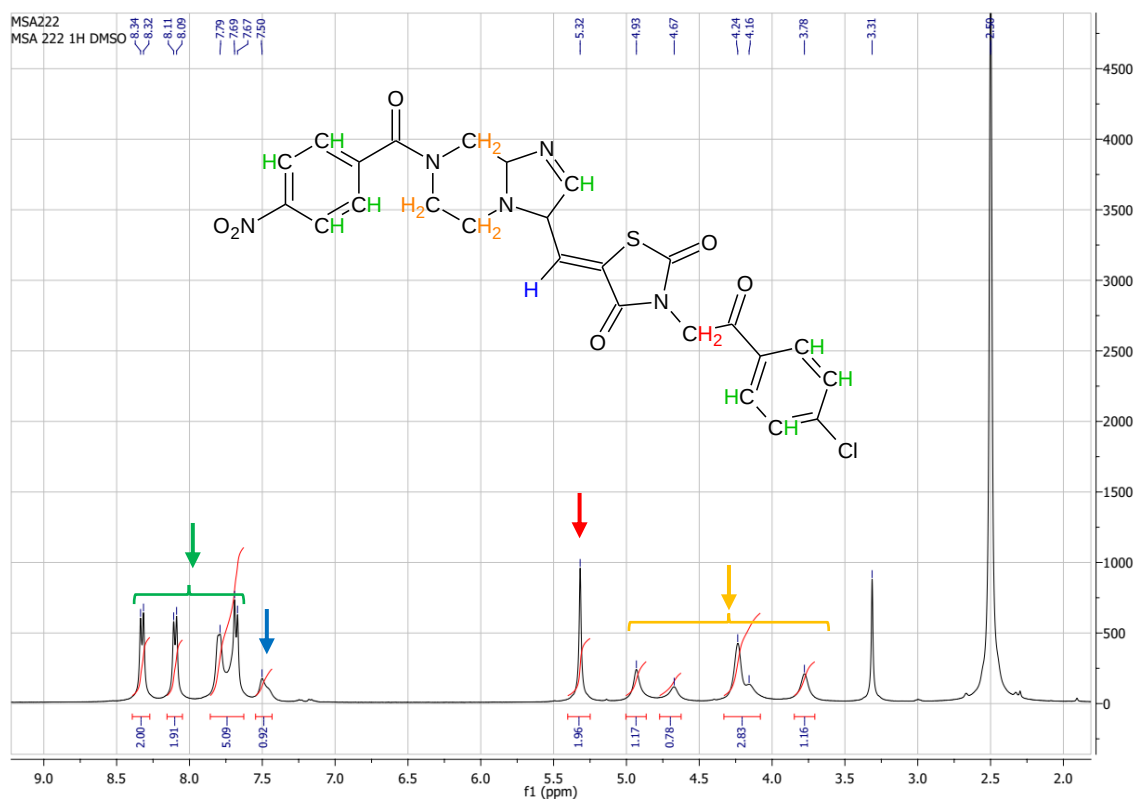


Figura 34. Espectro de RMN de ^1H da molécula **78b** obtido no solvente DMSO-d_6 .

A Figura 35 apresenta o espectro de RMN de ^{13}C da molécula **78b** em DMSO- d_6 . Nesse espectro é possível ver alguns picos diagnósticos da referida molécula, como por exemplo o sinal em 47,85 ppm que corresponde ao CH_2 da porção acetofenona ligada ao núcleo tiazolidina-2,4-diona. Na região de campo mais baixo do espectro, podem ser evidenciados alguns picos importantes, como o sinal em 133,52 ppm que corresponde ao carbono vinílico da ligação dupla que une os dois núcleos hibridizados. Os sinais em 139,36 ppm e 148,13 ppm correspondem, respectivamente, aos carbonos quaternários aromáticos que possuem ligações com os radicais cloro e nitro. As carbonilas presentes na molécula também podem ser visualizadas no espectro com os sinais bastantes desblindados, características destas estruturas, em 164,69 ppm, 166,25 ppm, 167,82 ppm e 190,58 ppm, respectivamente. Os carbonos presentes no núcleo 5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazina não possuem boa resolução, em algumas moléculas os picos podem ser visualizados apenas pelo espectro bidimensional de “Heteronuclear Single Quantum Coherence – HSQC”. Possivelmente, o não aparecimento dos picos referentes a esses carbonos é devido à uma dificuldade de relaxação de spin desses átomos, devido à estrutura não planar deste núcleo.

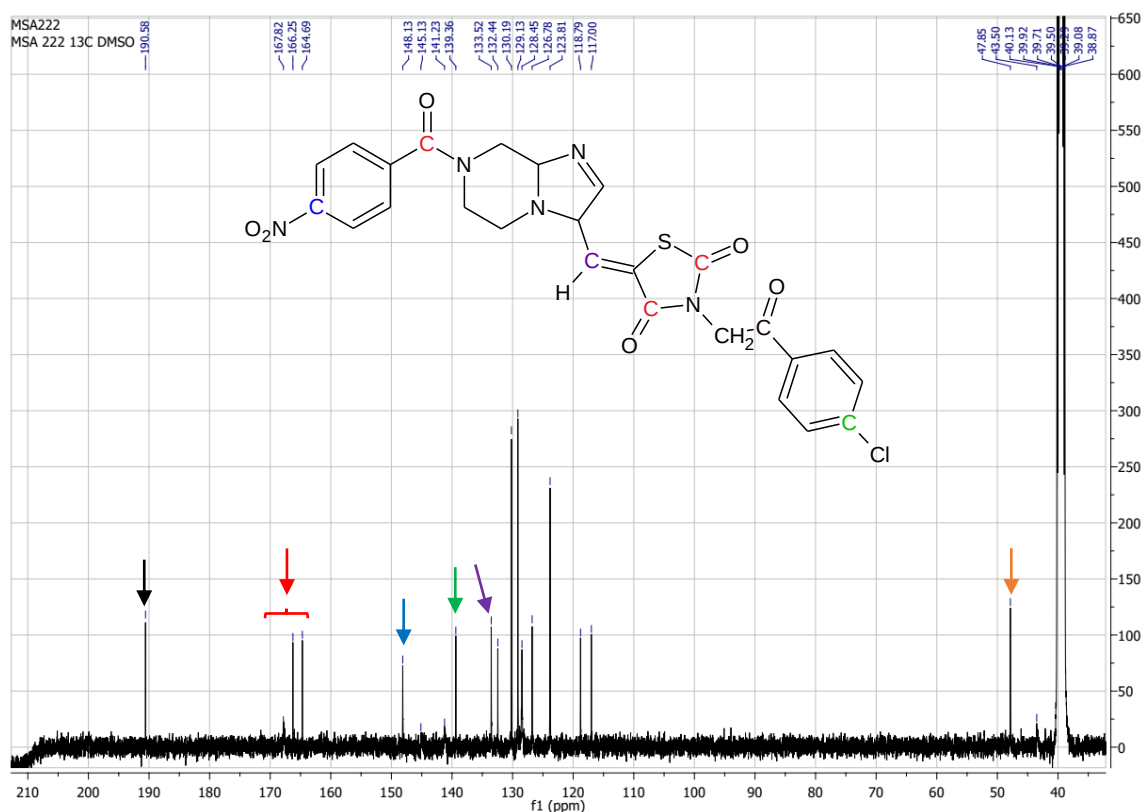


Figura 35. Espectro de RMN de ^{13}C da molécula **78b** obtido no solvente DMSO- d_6 .

4.4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Todos os reagentes comerciais foram utilizados sem purificação adicional. Todos os solventes eram reagentes ou grau HPLC. A CCD analítica foi realizada em placas de gel de sílica 60 F254. A cromatografia em coluna foi realizada em gel de sílica Merck 60 (70-230 mesh ASTM) e Cromatografia Flash Grace Reveleris X2TM. Os rendimentos referem-se a compostos cromatograficamente e espectroscopicamente puros. Os pontos de fusão foram determinados num aparelho de ponto de fusão Electrothermal IA 9000. Os espectros de infravermelho (IV) foram registrados em um espectrofotômetro Shimadzu IRAffinity-1 IR-FT equipado com um acessório ATR MIRacle 10. Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram registrados em DMSO- d_6 utilizando um espectrômetro Bruker AVANCE de 400 MHz. Os deslocamentos químicos são expressos em ppm, tendo como padrão interno o tetrametilsilano para RMN de ^1H , sendo os sinais designados por singleto (s), dubleto (d), tripleto (t), duplo dubleto (dd), falso tripleto (ft), sinal largo (sl). As análises de LC / MS foram realizadas num sistema Waters ACQUITY UPLC-MS constituído por um espectrômetro de massa (MS) equipado com uma Interface de Ionização por Electrospray (ESI) e um detector de Array de Fotodiod (PDA). Os HR-ESI-MS foram realizados utilizando um instrumento UFLC-MS (IT-TOF) Shimadzu da FIA - (+/-) - HR-ESI-MS.

4.4.1. Síntese da imidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxilato de etila **64a**

Sólido marrom

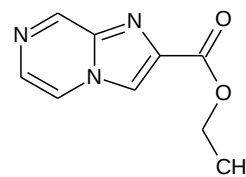
C₉H₉N₃O₂

MM: 191,18 g/mol

R_f: 0,25 (AcOEt 100%)

Pf: 179,9 °C

Rendimento: 25 %



À uma solução de 2-aminopirazina **58** (5g; 52,57 mmol) em DME (dimetóxietano) foi adicionada uma solução de bromopiruvato de etila **59** (10,22 mL; 65,19 mmol), em temperatura ambiente. A mistura reacional permaneceu em agitação nestas condições por 2,5 horas. Em seguida, o meio reacional foi resfriado à 0°C por 30 minutos e então a mistura foi filtrada em funil sinterizado e o pó resultante foi lavado com éter resfriado.

Posteriormente, esse precipitado foi suspenso em etanol e a mistura resultante foi colocada em refluxo por 2 horas. A solução foi concentrada e o produto resultante foi solubilizado em CH₂Cl₂ e lavado com uma solução saturada de NaHCO₃. A mistura formada foi filtrada em funil sinterizado e a fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ e o solvente foi evaporado. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna sob um gradiente crescente dos solventes acetato de etila e ciclohexano (1:1; 7:3; 9:1). A etil imidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxilato **64a** resultante é um pó marrom.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **64a**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

1.372 (t; *J* = 7,2 Hz; 3H); 4.387 (q; *J* = 7,2 Hz; 2H); 8.023 (d; *J* = 4Hz; 1H); 8.625 (dd; *J*' = 4 Hz; *J*'' = 8Hz; 1H); 8.729 (sl; 1H); 9.211 (sl; 1H);

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

14.32 (CH₃); 60.80 (CH₂); 118.79 (CH); 120.78 (CH); 129.81 (CH) 137.04 (C); 139.97 (C); 144.93 (CH); 162.24 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.093; 2.985; 1.707; 1.525; 1.477; 1.298; 1.222; 1.028; 819

MS (ESI), *m/z* (%): 192,1 (M+1)

4.4.2. Síntese da imidazo[1,2-a]pirazina-3-carboxilato de etila **64b**

4.4.2.1. Síntese do 2-cloro-3-etoxi-3-oxoprop-1-enoato de potássio **63**

Sólido amarelo-alaranjado

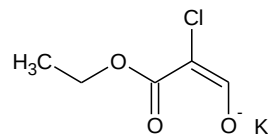
$C_5H_6ClKO_3$

MM: 188,65 g/mol

Rf: não determinado

Pf: não determinado

Rendimento: 78%



Uma mistura de 2-cloroacetato de etila **60** (9,6 mL; 89,8 mmol) e formato de etila **61** (8,0 mL; 98,7 mmol) foi adicionada à uma suspensão de *t*-butóxido de potássio **62** (11,1 g; 98,7 mmol) em THF seco (100 mL) à -5°C. Durante a adição da mistura, a temperatura não pode ser superior a 10°C. Após a adição, o banho de gelo foi retirado e a mistura ficou em agitação durante 24 horas. O sólido foi filtrado sob funil sinterizado e lavado com THF. O produto é utilizado na próxima etapa sem prévia purificação. Foram obtidos 13,18 g do produto, correspondendo à um rendimento de 78%.

4.4.2.2. Síntese da etil imidazo[1,2-a]pirazina-3-carboxilato **64b**

Pó marrom claro

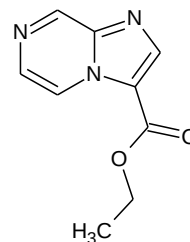
C₉H₉N₃O₂

MM: 191,18 g/mol

R_f: 0,26 (AcOEt/ciclohexano 1:1)

Pf: 131,9 °C

Rendimento: 44,3%



A uma suspensão de 2-cloro-3-etoxi-3-oxoprop-1-em-1-olato de potássio **63** (13,183 g; 63,88 mmol) em etanol (46,6 mL) foi adicionado inicialmente o H₂SO₄ (2,093 mL; 37,264 mmol) e em seguida a 2-aminopirazina **58** (2,21 g; 23,29 mmol). A mistura resultante foi aquecida até o refluxo por 18 horas. Decorrido o tempo, o solvente foi evaporado e então ao produto resultante foi adicionado água destilada e então o meio foi alcalinizado com uma solução de NaOH 10 M. Esta solução foi adicionada lentamente gota-a-gota e o pH deve ficar entre 8 e 9. Em seguida foi feita extração da fase aquosa com acetato de etila. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro e concentrada à vácuo. A purificação foi feita através de coluna cromatográfica “Flash” e foi utilizado um gradiente dos solventes éter de petróleo e acetato de etila (7:3; 1:1; 0:1). Foram obtidos 1,973 g do produto puro, correspondendo à um rendimento de 44,3%

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **64b**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

1,360 (t; *J*= 7,2 Hz; 3H); 4,398 (q; *J*=8 Hz); 8,219 (d; *J*= 4 Hz; 1H); 8,425 (s; 1H); 9,089 (dd; *J*'= 4 Hz; *J*''= 6 Hz); 9,291 (d; *J*= 1,2 Hz; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

14,12 (CH₃); 60,78 (CH₂); 116,49 (CH); 120,22 (CH); 131,75 (CH); 141,21 (CH); 142,19 (C); 143,59 (CH); 159,33 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.132; 2.970; 1.693; 1.506; 1.458; 1.369; 1.323; 1.199; 1.062

MS (ESI), *m/z* (%):

192,1 (M+1)

4.4.3. Redução da pirazina **64a,b**

4.4.3.1. Síntese da 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxilato de etila **65a**

Sólido bege

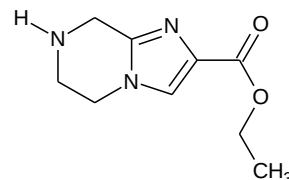
$C_9H_{13}N_3O_2$

MM: 195,21 g/mol

Rf: 0,18 (AcOEt/MeOH 1:1)

Pf: degradou

Rendimento: 93%



A uma suspensão de imidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxilato de etila **64a** (1 g; 5,230 mmol) em metanol (30,5 mL) foram adicionados Pd^0/C 10% (1,11 g; 1,041 mmol) e formato de amônio (3,24 g; 50,1374 mmol). Essa mistura foi aquecida à 80°C por 30 minutos e posteriormente foi feita uma filtração sob celite®. O solvente foi evaporado e o produto bruto foi utilizado desta forma para a etapa seguinte. Foram obtidos 0,952 g de um sólido levemente amarelado, sendo o rendimento 93%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **65a**

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

1.281 (t; J = 7,2 Hz; 3H); 2.084 (sl; 1H); 3.062 (t; J = 5,6 Hz; 2H); 3.860 (s; 2H); 3.959 (t; J = 5,2 Hz; 2H); 4.223 (q; J = 6,8 Hz; 2H); 7.786 (s; 1H)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

14.47 (CH_3); 42.36 (CH_2); 43.98 (CH_2); 45.46 (CH_2); 59.41 (CH_2); 125.51 (C); 130.77 (C); 144.46 (C); 162.66 (C=O)

IV (ATR), cm^{-1} :

3.253; 2.985; 1.707; 1.543; 1.365; 1.188; 1.122

MS (ESI), m/z (%):

196,1 (M+1)

4.4.3.2. Síntese do 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carboxilato de etila **65b**

Sólido levemente amarelado

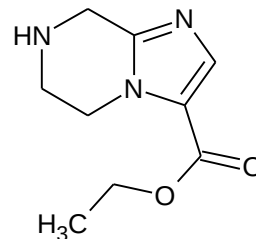
$C_9H_{13}N_3O_2$

MM: 195,21 g/mol

Rf: 0,2 (AcOEt/MeOH 3:7)

Pf: 46,7 °C

Rendimento: 94%



O método de síntese é similar ao utilizado no item 4.4.3.1.

Foram utilizados o imidazo[1,2-a]pirazina-3-carboxilato de etila **64b** (0,813 g; 4,252 mmol), Pd^0/C 10% (0,906 g; 0,8504 mmol), formato de amônio (2,636 g; 40,8192 mmol) e metanol (24,8 mL). Foram obtidos 0,779 g do produto que foi utilizado sem prévia purificação. O rendimento obtido foi de 94%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **65b**

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

1,268 (t; $J=7,2$ Hz; 3H); 3,047 (t; $J=5,6$ Hz; 2H); 3,326 (sl; NH+H₂O); 3,882 (s; 2H); 4,093 (t; $J=5,6$ Hz); 4,231 (q; $J=7,2$ Hz; 2H); 7,565 (s; 1H)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

14,18 (CH₃); 42,02 (CH₂); 44,23 (CH₂); 45,43 (CH₂); 59,71 (CH₂); 121,58 (C); 135,40 (CH); 148,57 (C); 159,54 (C=O)

IV (ATR), cm^{-1} :

3.259; 1.708; 1.537; 1.462; 1.375; 1.172; 1.043

MS (ESI), m/z (%):

196,1 (M+1)

4.4.4. Proteção da pirazina reduzida **65a,b** com Boc

4.4.4.1. Síntese da 7-*terc*-butil-2-etil-5,6-dihidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-2,7(8*H*)-dicarboxilato **67a**

Sólido branco

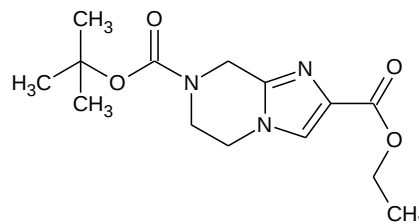
C₁₄H₂₁N₃O₄

MM: 295,33 g/mol

R_f: 0,36 (100% AcOEt)

Pf: 111,1 °C

Rendimento: 91 %



A uma solução de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-2-carboxilato de etila **65a** (1,774 g; 9,089 mmol) em diclorometano (86,5 mL), à 0°C e atmosfera de nitrogênio, foram adicionados a trietilamina (1,47 mL; 0,5122 mmol) e o anidrido Boc **66** (2 g; 9,089 mmol). O meio reacional permaneceu sob estas condições por 5 minutos. Posteriormente o banho de gelo foi retirado e a reação ficou em temperatura ambiente por mais 3 horas. Decorrido o tempo, foi feita extração (3 vezes) com acetato de etila e água destilada. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro e o solvente foi evaporado. Foi feita purificação sob cromatografia em coluna de sílica gel com um gradiente dos solventes ciclohexano e acetato de etila (1:1 e 0:1). Foram obtidos 2,443 g de produto puro, correspondendo à um rendimento de 91 %.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **67a**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

1.247 (t; *J* = 7,2 Hz; 3H); 1.435 (s; 9H); 3.757 (t; *J* = 6 Hz; 2H); 4.038 (t; *J* = 5,2 Hz; 2H); 4.199 (q; *J* = 7,2 Hz; 2H); 4.544 (s; 2H); 7,833 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

14.44 (CH₃); 28.07 (CH₃); 41.43 (CH₂); 43.00 (CH₂); 44.20 (CH₂); 59.57 (CH₂); 80,12 (C); 125.74 (CH); 131.57 (C); 141.83 (C); 153.75 (C=O); 162.39 (C=O)

IR (ATR), cm⁻¹:

2.968; 1.716; 1.680; 1.537; 1.477; 1.408; 1.182; 1.163

MS (ESI), *m/z* (%):

296,2 (M+1)

4.4.4.2. Síntese da 7-terc-butil-3-etil-5,6-dihidroimidazo[1,2-a]pirazina-3,7(8H)-dicarboxilato **67b**

Sólido branco

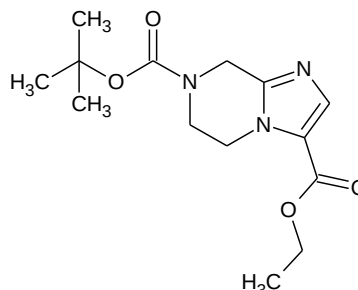
$C_{14}H_{21}N_3O_4$

MM: 295,33 g/mol

Rf: 0,38 (Ciclohexano/AcOEt 1:1)

Pf: 76,8 °C

Rendimento: 86,4%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.4.1.

Foram utilizados 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carboxilato de etila **65b** (0,736 g; 3,77 mmol), anidrido Boc (0,8 g; 3,77 mmol), TEA (0,61 mL; 4,524 mmol) e CH_2Cl_2 seco (35,8 mL). A purificação foi feita por meio de coluna cromatográfica utilizando como solventes acetato de etila e ciclohexano (1:1). Foram obtidos 0,962 g.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **67b**

1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$), δ ppm:

1,275 (t; $J=7,2$ Hz; 3H); 1,435 (s; 9H); 3,771 (t; $J=5,2$ Hz; 2H); 4,249 (m; 4H); 4,592 (s; 2H); 7,623 (s; 1H)

^{13}C NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$), δ ppm:

14,14 (CH_2); 27,88 ($3CH_3$); 40,25 (CH_2); 42,51 (CH_2); 44,14 (CH_2); 59,93 (CH_2); 79,96 (C); 121,93 (C); 135,90 (CH); 145,76 (C); 153,52 (C=O); 159,38 (C=O)

IV (ATR), cm^{-1} :

2.976; 1.693; 1.544; 1.408; 1.298; 1.161; 1.147

MS (ESI), m/z (%):

296,2 (M+1)

4.4.5. Síntese dos derivados álcoois **68a,b**

4.4.5.1. Síntese da terc-butil-2-(hidroximetil)-5,6-dihidroimidazo[1,2-a]pirazina-7(8H)-carboxilato **68a**

Sólido bege

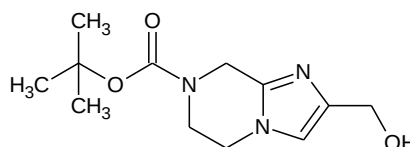
$C_{12}H_{19}N_3O_3$

MM: 253,29 g/mol

Rf: Não determinado

Pf: 164,8 °C

Rendimento: 80%



A uma solução de 7-*terc*-butil-2-etil-5,6-dihidroimidazo[1,2-a]pirazina-2,7(8H)-dicarboxilato **67a** (0,2 g; 0,6772 mmol) em tetrahydrofurano (17,8 mL), à 0°C e atmosfera de nitrogênio, foi adicionado $LiAlH_4$ (0,10 g; 2,7088 mmol). A mistura reacional permaneceu sob estas condições por 30 minutos. Posteriormente foi adicionada água destilada ao meio reacional e foi feita uma filtração sob celite®. A mistura foi extraída com acetato de etila, a fase orgânica foi seca e o solvente foi evaporado. O produto foi utilizado para a etapa seguinte sem purificação. O rendimento obtido foi de 80%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **68a**

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

1.430 (s; 9H); 3.725 (t; J = 5,6 Hz; 2H); 3.924 (t; J = 5,2 Hz; 2H); 4.284 (d; J = 5,6 Hz; 2H); 4.476 (s; 2H); 4.786 (t; J =6 Hz; 1H); 6.909 (s; 1H)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

28.10 (3 CH_3); 40.91 (CH_2); 42.60 (CH_2); 43.45 (CH_2); 57.73 (CH_2); 79.94 (C); 115.60 (CH); 139.63 (C); 141.94 (C); 153.83 (C=O)

IV (ATR), cm^{-1} :

3.199; 1.703; 1.411; 1.155; 1.028

MS (ESI), m/z (%):

Não absorve UV, Não detectado no UPLC-MS.

4.4.5.2. Síntese da *tert*-butil 3-(hidroximetil)-5,6-dihidroimidazo[1,2-*a*]pirazine-7(8*H*)-carboxilato **68b**

Sólido bege

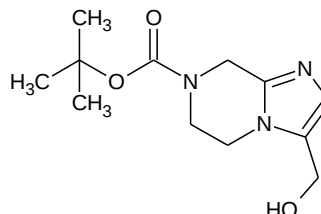
C₁₂H₁₉N₃O₃

MM: 253,29 g/mol

Rf: não determinado

Pf: 123,4 °C

Rendimento: 87,4%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.5.1.

Foram utilizados 7-*tert*-butil-3-etil-5,6-dihidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-3,7(8*H*)-dicarboxilato **67b** (0,875 g; 2,9627 mmol), LiAlH₄ (0,331 g; 8,8881 mmol) e THF seco (77,7 mL). O produto foi utilizado bruto para a etapa seguinte. A massa obtida foi 0,656g, sendo o rendimento 87,4%

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **68b**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

1,433 (s; 9H); 3,758(t; *J*= 5,6 Hz; 2H); 3,952 (t; *J*= 5,6 Hz; 2H); 4,397 (s; 2H); 4,506 (s; 2H); 4,997 (sl; 1H); 6,759 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

27,90 (3CH₃); 40,75 (CH₂); 41,55 (CH₂); 41,80 (CH₂); 52,29 (CH₂); 79,75 (C); 125,86 (C); 130,66 (CH); 140,65 (C); 193,60 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.136; 2.926; 1.691; 1.415; 1.365; 1.240; 1.136; 1.014

MS (ESI), *m/z* (%):

Não absorve UV, Não detectado no UPLC-MS.

4.4.6. Síntese dos derivados aldeídos protegidos

4.4.6.1. Síntese da *tert*-butil 2-formil-5,6-dihidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-7(8*H*)-carboxilato **69a**

Sólido bege claro

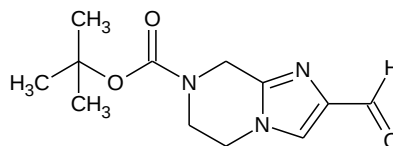
C₁₂H₁₇N₃O₃

MM: 251,28 g/mol

Rf: 0,24 (AcOEt 100%)

Pf: 112,3 °C

Rendimento: 81%



À uma solução de *tert*-butil-2-(hidroximetil)-5,6-dihidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-7(8*H*)-carboxilato **68a** (1,129 g; 4,4457 mmol) em diclorometano seco (208 mL), à temperatura ambiente e atmosfera de nitrogênio, foi adicionado o MnO₂ (7,71 g; 89,14 mmol). A mistura reacional permaneceu sob estas condições por 18 horas e então foi feita uma filtração sob celite seguida de uma lavagem com água destilada. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro e o solvente foi evaporado. Foi feita purificação através de uma cromatografia em coluna de sílica gel utilizando um gradiente dos solventes ciclohexano e acetato de etila (1:1 e 0:1). Foram obtidos 0,904 g do produto puro, sendo o rendimento 81%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **69a**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

1,437 (s; 9H); 3,779 (t; *J* = 5,6 Hz; 2H); 4,093 (t; *J* = 5,6 Hz; 2H); 4,584 (s; 2H); 8,020 (s; 1H); 9,687 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

27,88 (3CH₃); 39,99 (CH₂); 42,36 (CH₂); 44,31 (CH₂); 79,99 (C); 127,61 (CH); 140,39 (C); 142,89 (C); 153,53 (C=O); 184,87 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

2.976; 1.691; 1.670; 1.541; 1.390; 1.155; 1.112

MS (ESI), *m/z* (%):

252,2 (M+1); 90,8 (M-1)

4.4.6.2. Síntese da *tert*-butil 3-formil-5,6-dihidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-7(8*H*)-carboxilato **69b**

Sólido bege

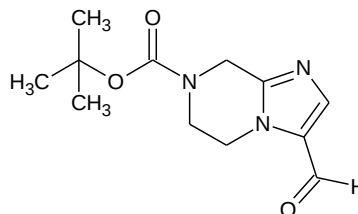
C₁₂H₁₇N₃O₃

MM: 251,28 g/mol

Rf: 0,33 (Ciclohexano/AcOEt 3:7)

Pf: 111,1-112,7 °C

Rendimento: 85%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.6.1.

Foram utilizados *tert*-butil 3-(hidroximetil)-5,6-dihidroimidazo[1,2-*a*]pirazine-7(8*H*)-carboxilato **68b** (0,894 g; 3,5295 mmol), MnO₂ ativado (6,104 g; 70,5910 mmol) e CH₂Cl₂ (165 mL). A purificação foi feita em cromatografia em coluna “Flash” automática utilizando um gradiente dos solventes acetato de etila e ciclohexano (1:1 e 1:0). Foram obtidos 0,757 g, sendo o rendimento 85%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **69b**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

1,436 (s; 9H); 3,772 (t; *J*= 5,2 Hz; 2H); 4,261 (t; *J*= 5,2 Hz; 2H); 4,639 (s; 2H); 7,888 (s; 1H); 9,671 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

27,87 (3CH₃); 40,13 (CH₂); 42,68 (CH₂); 44,22 (CH₂); 80,03 (C); 130,94 (C); 142,29 (CH); 147,46 (C); 153,52 (C=O); 179,49 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

2.976; 1.697; 1.649; 1.471; 1.415; 1.155; 1.118

MS (ESI), *m/z* (%):

252,1 (M+1)

4.4.7. Remoção do grupamento Boc

4.4.7.1. Síntese do cloreto de 7-[2-formil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina] **70a**

Sólido marrom

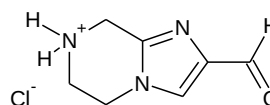
$C_7H_{10}ClN_3O$

MM: 187,62 g/mol

Rf: Não determinado

Pf: Não determinado

Rendimento: Não determinado



A uma solução de *tert*-butil 2-formil-5,6-dihidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-7(8*H*)-carboxilato **69a** (1,425 g; 5,670 mmol) em diclorometano (30,3 mL) e metanol (15,1 mL) foi adicionada uma solução de HCl 1M em dioxano (17 mL; 17 mmol). A solução resultante foi aquecida até 80°C e permaneceu em agitação nestas condições por 5 horas. Ao final os solventes foram eliminados e o produto resultante foi utilizado sem prévia purificação. Foram obtidos 1,2 g de produto bruto.

4.4.7.2. Síntese do cloreto de 7-[3-formil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina]
70b

Sólido marrom

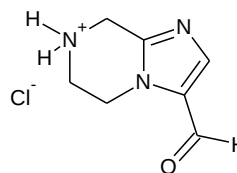
C₇H₁₀ClN₃O

MM: 187,62 g/mol

Rf: não determinado

Pf: não determinado

Rendimento: não determinado



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.7.1.

Foram utilizados *tert*-butil 3-formil-5,6-dihidroimidazo[1,2-a]pirazina-7(8*H*)-carboxilato **69b** (0,757 g; 3,0124 mmol), HCl 1M em dioxano (9,0373 mL; 9,0373 mmol), CH₂Cl₂ (16,09 mL) e metanol (8,04 mL). Foram obtidos 0,591 g do produto bruto.

4.4.8. N-benzoílação dos derivados 5,6,7,8-imidazo[1,2-a]pirazina

4.4.8.1. Síntese de 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71a**

Sólido bege claro

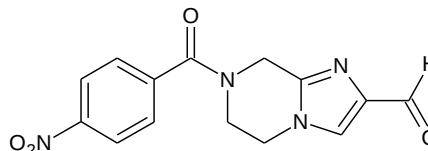
$C_{14}H_{12}N_4O_4$

MM: 300,27 g/mol

Rf: 0,25 (AcOEt/MeOH - 19:1)

Pf: 218,2 (degradação)

Rendimento: 71%



À uma solução do cloreto de 7-[2-formil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina] **70a** (0,543 g; 2,8627mmol) em DMF anidro (21,7 mL) foi adicionada a trietilamina (1,08 mL; 8,5881 mmol) e em seguida uma solução do cloreto de 4-nitro-benzoíla **45f** (0,531 g; 2,8627 mmol) em THF seco (5 mL), sob atmosfera de nitrogênio. A reação permaneceu 30 minutos em temperatura ambiente. Posteriormente os solventes foram eliminados em rotaevaporador. A purificação foi feita por coluna cromatográfica “Flash” automática utilizando um gradiente dos solventes acetato de etila e metanol (0:1 e 19:1). Foram obtidos 0,608 g do 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71a**.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **71a**

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

3,731 (sl; 1H); 4,160 (sl; 3H); 4,604 (sl; 1H); 4,869 (s;1H); 7,788 (sl; 2H); 8,071 (s; 1H); 8,329 (d; J = 5,2 Hz; 2H); 9,715 (sl; 1H)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

41,08(CH₂); 4,75 (CH₂); 44,76 (CH₂); 45,7 (CH₂); 123,80 (2CH); 127,62 (CH); 128,44 (2CH); 140,53 (C); 141,37 (C); 142,44 (C); 148,09 (C); 167,87 (C=O); 184,86 (C=O)

IV (ATR), cm^{-1} :

3.047; 2.821; 1.681; 1.631; 1.598; 1.514; 1.419; 1.348; 804

MS (ESI), m/z (%):

301,2 (M+1)

4.4.8.2. Síntese do 7-(4-nitrobenzoi)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldeído **71b**

Sólido amarelo escuro

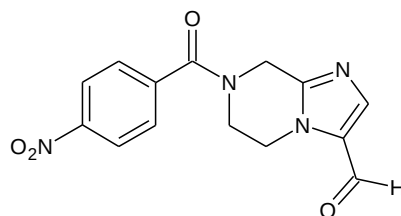
$C_{14}H_{12}N_4O_4$

MM: 300,27 g/mol

Rf: 0,25 (AcOEt/MeOH – 19:1)

Pf: 169,5 °C

Rendimento: 42%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.8.1.

Foram utilizados o cloreto de 7-[3-formil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina] **70b** (1,23 g; 6,4846 mmol), cloreto de 4-nitro-benzóila **45f** (1,229 g; 6,4846 mmol), TEA (2,44 mL; 19,4538 mmol), DFM seco (49 mL) e THF seco (11,3 mL). A purificação foi feita por meio de coluna cromatográfica automática em gel de sílica, utilizando um gradiente dos solventes ciclohexano e acetato de etila (3:7, 1:1, 0:1). Foram recuperados 0,815 g do produto puro, sendo o rendimento 42%.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **71b**

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

3,279 (sl; 1H); 4,104 (sl; 1H); 4,345 (sl; 2H); 4,669 (sl; 1H); 4,921 (s; 1H); 7,799 (d; $J=7,2$ Hz; 2H); 7,933 (sl; 1H); 8,321 (d; $J=8,8$ Hz; 2H); 9,693 (s; 1H)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

39,08 + 43,42 (CH_2); 41,16 + 45,84 (CH_2); 44,49 (CH_2); 123,79 ($2CH_2$); 128,49 ($2CH$); 131,00 (C); 141,19 (C); 142,38 (CH); 147,04 (C); 148,11 (C); 167,87 (C=O); 179,54 (C=O)

IV (ATR), cm^{-1} :

3.074; 1.662; 1.627; 1.600; 1.512; 1.344; 813

MS (ESI), m/z (%):

301,1 (M+1); 166,2 (M-1)

4.4.8.3. Síntese do 7-(4-fluorobenzoyl)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazine-2-carbaldeído **71c**

Sólido marrom

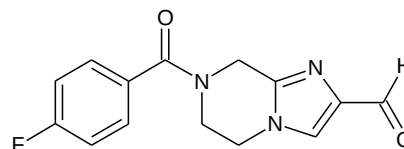
$C_{14}H_{12}FN_3O_2$

MM: 273,26 g/mol

Rf: 0,28 (AcOEt/MeOH – 19:1)

Pf: 114,4 °C

Rendimento: 58%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.8.1.

Foram utilizados 7-[2-formil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina] **70a** (0,45 g; 2,3724 mmol); DMF anidro (18 mL); TEA (0,9 mL; 7,1172 mmol); Cloreto de 4-fluorobenzoíla **45b** (0,27 mL; 2,3724 mmol) e THF seco (4,13 mL).

O produto foi purificado por meio de coluna cromatográfica “Flash” automática com um gradiente dos solventes acetato de etila e metanol (1:0 e 19:1). Foram obtidos 0,375 g.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **71c**

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

3,832 (sl; 2H); 4,173 (t; $J = 5,2$ Hz; 2H); 4,765 (s; 2H); 7,324 (ft; $J' = J'' = 8,8$ Hz; 2H); 7,587 (dd; $J' = 5,6$ Hz; $J'' = 8,4$ Hz; 2H); 8,061 (s; 1H); 9,694 (s; 1H)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

? (CH_2); 40,95 (CH_2); 44,33 (CH_2); 115,50 (d; $J = 23$ Hz; 2CH); 127,62 (CH); 129,73 (d; $J = 9$ Hz; 2CH); 131,98 (C); 140,51 (C); 142,60 (C); 162,82 (d; $J = 246$ Hz; C-F); 168,85 (C=O); 184,85 (C=O)

IR (ATR), cm^{-1} :

3.062; 2.810; 1.680; 1.637; 1.413; 1.317; 1.220; 819

MS (ESI), m/z (%):

274,1 (M+1)

4.4.8.4. Síntese do 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazine-2-carbaldeído **71d**

Sólido marrom

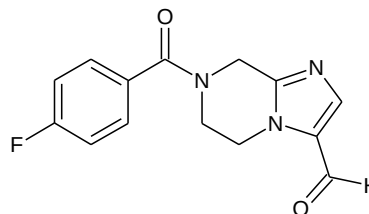
$C_{14}H_{12}FN_3O_2$

MM: 273,26 g/mol

Rf: 0,31 (AcOEt/MeOH – 19:1)

Pf: 73,1 °C

Rendimento: 57,5%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.8.1.

Foram utilizados 7-[2-formil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina] **70b** (0,35 g; 1,8452 mmol); DMF anidro (3 mL); TEA (0,7 mL; 5,5356 mmol); Cloreto de 4-fluorobenzoíla **45b** (0,21 mL; 1,8452 mmol) e THF seco ou CH_3CN (3 mL).

O produto foi purificado por meio de coluna cromatográfica em gel de sílica com um gradiente dos solventes acetato de etila e metanol (1:0, 19:1 e 93:7). Foram obtidos 0,29 g.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **71d**

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

3,84 (sl; 2H); 4,348 (t; $J = 5,2$ Hz; 2H); 4,824 (s; 2H); 7,316 (ft; $J' = J'' = 8,8$ Hz; 2H); 7,597 (dd; $J' = 5,2$ Hz; $J'' = 8,4$ Hz; 2H); 7,906 (s; 1H); 9,687 (s; 1H)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

41,44 (CH_2); 43,45 (CH_2); 44,38 (CH_2); 115,50 (d; $J^2 = 21$ Hz; 2CH); 129,81 (d; $J^3 = 8$ Hz; 2CH); 131,28 (C); 131,31 (C); 142,36 (CH); 147,15 (C); 162,87 (d; $J^1 = 246$ Hz; C-F); 168,83 (C=O); 179,52 (C=O)

IV (ATR), cm^{-1} :

1.666; 1.631; 1.600; 1.419; 1.224; 1.138; 842; 810

MS (ESI), m/z (%):

274,1 (M+1)

4.4.8.5. Síntese de 7-(4-metoxibenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71e**

Sólido branco

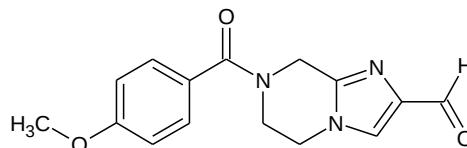
$C_{15}H_{15}N_3O_3$

MM: 285,29 g/mol

Rf: 0,26 (AcOEt/MeOH – 9,3:0,7)

Pf: 130,8-133,2

Rendimento: 40,5%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.8.1.

Foram utilizados 7-[2-formil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina] **70a** (0,2 g; 1,0656 mmol); DMF anidro (8,07 mL); TEA (0,4 mL; 3,1968 mmol); cloreto de 4-metoxibenzoíla **45c** (0,181 g; 1,0656 mmol) e THF seco (1,85 mL).

O produto foi purificado por meio de coluna cromatográfica “Flash” automática com um gradiente dos solventes acetato de etila e metanol (1:0 e 19:1). Foram obtidos 0,123 g.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **71e**

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

3,814 (s; 3H); 3,913 (sl; 2H); 4,179 (t; J = 4,8 Hz; 2H); 4,761 (s; 2H); 7,025 (d; J = 8,8 Hz; 2H); 7,481 (d; J = 8,4 Hz; 2H); 8,054 (s; 1H); 9,692 (s; 1H)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

? (CH_2); 42,00 (CH_2); 44,39 (CH_2); 55,27 (CH_3); 113,77 (CH_2); 126,81 (C); 127,65 (CH); 129,23 (2CH); 140,51 (C); 142,79 (C); 160,63 (C); 169,70 (C=O); 184,88 (C=O)

IV (ATR), cm^{-1} :

2.990; 1.678; 1.627; 1.604; 1.411; 1.247; 848; 817

MS (ESI), m/z (%):

286,2 (M+1)

4.4.8.6. Síntese do 7-(4-metoxibenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldeído **71f**

Sólido bege

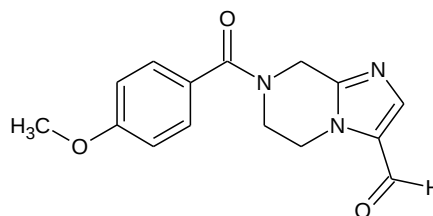
$C_{15}H_{15}N_3O_3$

MM: 285,29 g/mol

Rf: 0,38 (AcOEt/ MeOH – 93:7)

Pf: 142,6 °C

Rendimento: 51,3%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.8.1.

Foram utilizados 7-[2-formil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina] **70b** (0,2 g; 1,0656 mmol); DMF anidro (8,07 mL); TEA (0,4 mL; 3,1968 mmol); cloreto de 4-metoxibenzoíla **45c** (0,181 g; 1,0656 mmol) e THF seco (1,85 mL).

O produto foi purificado por meio de coluna cromatográfica “Flash” automática com um gradiente dos solventes acetato de etila e metanol (1:0 e 19:1). Foram obtidos 0,156 g.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **71f**

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

3,814 (s; 3H); 3,896 (sl; 2H); 4,350 (t; J = 5,2 Hz; 2H); 4,818 (s; 2H); 7,021 (d; J = 8,4 Hz; 2H); 7,491 (d; J = 8,8 Hz; 2H); 7,904 (s; 1H); 9,689 (s; 1H)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

? (CH₂); 42,37 (CH₂); 44,40 (CH₂); 55,25 (CH₃); 113,76 (2CH); 126,76 (C); 129,26 (2CH); 130,99 (C); 142,32 (CH); 147,30 (C); 160,65 (C); 169,64 (C=O); 179,49 (C=O)

IV (ATR), cm^{-1} :

2.968; 1.666; 1.627; 1.604; 1.419; 1.244; 846; 817

MS (ESI), m/z (%):

286,2 (M+1)

4.4.9. Síntese das tiossemicarbazidas

4.4.9.1. Síntese da *N*-fenilhidrazinacarbotiamida **74b**

Sólido branco

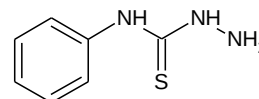
C₇H₉N₃S

MM: 167,23 g/mol

Rf: 0,33 (Ciclohexano / Acetato de etila – 1:1)

Pf: 139,2-141,4 °C

Rendimento: 80,6%



A uma solução de isotiocianato de fenila **72a** (0,2 mL; 1,68 mmol) em 14 mL de etanol foi adicionada a hidrazina 64% **73** (0,079 mL; 1,68 mmol). Uma suspensão branca foi formada. A reação permaneceu sob vigorosa agitação em temperatura ambiente por 30 minutos. Em seguida, o solvente foi evaporado e o sólido resultante foi suspenso em etanol e em seguida filtrado em funil sinterizado, seguido de lavagens do sólido com etanol. A massa obtida foi 1,13g de um sólido branco.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **74b**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

4,787 (sl; 2H); 7,090 (t; *J*= 7,2 Hz; 1H); 7,293 (t; *J*= 7,6 Hz; 2H); 7,644 (d; *J*= 5,6 Hz; 2H); 9,111 (s; 1H); 9,652 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

123,56 (CH); 124,19 (CH); 128,18 (CH); 139,42 (C-NH); 179,56 (C=S)

IV (ATR, cm⁻¹:

3.298; 3.149; 1.490; 1.282; 1.217; 894

MS (ESI), *m/z* (%):

168,0 (M+1); 166,2 (M-1)

4.4.9.2. Síntese da *N*-(4-clorofenil)hidrazinacarbotiamida **74c**

Sólido branco

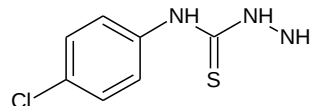
$C_7H_8ClN_3S$

MM: 201,67 g/mol

Rf: 0,26 (Ciclohexano / Acetato de etila – 3:7)

Pf: 184,9 °C

Rendimento: 84%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.9.1.

Foram utilizados isotiocianato de 4-clorofenila **72b** (0,169 g; 1 mmol), hidrazina 64% **73** (0,046 mL; 1 mmol) e etanol (8,3 mL). A suspensão resultante foi filtrada e o sólido foi lavado com etanol. A massa obtida foi 0,169 g.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **74c**

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

4,850 (sl; NH_2); 7,334 (d; $J = 8,4$ Hz; 2H); 7,693 (d; $J = 6$ Hz; 2H); 9,214 (s; NH); 10 (sl; NH)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

125,11 (2CH); 127,77 (2CH); 127,77 (C); 138,29 (C-Cl); 179,33 (C=S)

IV (ATR), cm^{-1} :

3.288; 3.172; 3.235; 1.531; 1.519; 1.479; 1.269; 827; 758

MS (ESI), m/z (%):

202,0 ($M+1$); 200,2 ($M-1$)

4.4.9.3. Síntese da *N*-(4-fluorofenil)hidrazinacarbotiamida **74d**

Sólido branco

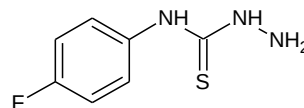
C₇H₈FN₃S

MM: 185,22 g/mol

R_f: 0,27 (Acetato de etila/ Ciclohexano – 1:1)

Pf: 176,6 °C

Rendimento: 94,5%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.9.1.

Foram utilizados isotiocianato de 4-fluorofenila **72c** (1,3 g; 8,512 mmol), hidrazina 64% **73** (0,4 mL; 8,512 mmol) e etanol (70,5 mL). A suspensão resultante foi filtrada em funil sinterizado e o sólido obtido foi lavado com etanol. A massa obtida foi 1,49 g.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **74d**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

4,766 (sl; NH₂); 7,122 (m; 2H); 7,602 (s; 2H); 9,129 (s; NH); 9,661 (sl; NH)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

114,47 (d; *J*= 22 Hz; 2CH); 125,80 (2CH); 135,60 (C); 158,83 (d; *J*= 239 Hz; C-F); 179,73 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.307; 3.111; 1.543; 1.411; 1.284; 1.149; 837

MS (ESI), *m/z* (%):

186,1 (M+1); 184,2 (M-1)

4.4.9.4. Síntese da *N*-(4-metóxfenil)hidrazinacarbotiamida **74e**

Sólido branco

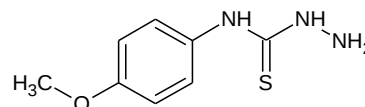
$C_8H_{11}N_3OS$

MM: 197,26

Rf: 0,23 (Acetato de etila/ Ciclohexano – 1:1)

Pf: 189,2 °C

Rendimento: 91,5%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.9.1.

Foram utilizados isotiocianato de 4-metoxifenila **72d** (1,18 mL; 8,512 mmol), hidrazina 64% (0,4 mL; 8,512 mmol) e etanol (70,6 mL). Em seguida a suspensão foi filtrada em funil sinterizado e o sólido foi lavado com etanol. Foi obtido um sólido branco, com massa igual a 1,5 g.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **74e**

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

3,732 (s; 3H); 4,717 (sl; 2H); 6,863 (d; J = 8,8 Hz; 2H); 7,439 (d; J = 8 Hz; 2H); 8,984 (s; 1H); 9,502 (sl; 1H)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

55,16 (CH_3); 125,55 (2CH); 113,19 (2CH); 132,17 (C); 156,13 (C); 179,82 (C=S)

IV (ATR), cm^{-1} :

3.103; 2.937; 1.541; 1.508; 1.292; 1.242; 1.028; 831

MS (ESI), m/z (%):

198,1 (M+1); 196,3 (M-1)

4.4.9.5. Síntese da *N*-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotiamida **74f**

Sólido amarelo-alaranjado

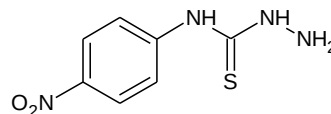
$C_7H_8N_4O_2S$

MM: 212,22 g/mol

Rf: 0,23 (Acetato de etila/ Ciclohexano – 1:1)

Pf: 183,5 °C

Rendimento: 89%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.9.1.

Foram utilizados isotiocianato de 4-nitrofenila **72e** (0,72 g; 4 mmol), hidrazina 64% **73** (0,184 mL; 4 mmol) e etanol (32,6 mL). Em seguida a suspensão resultante foi filtrada em funil sinterizado e o sólido lavado com etanol. A massa obtida foi 0,75 g de um sólido amarelo-alaranjado.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **74f**

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

6,479 (sl; 2H); 7,856 (s; 1H); 8,162 (s; 4H); 9,606 (s; 1H)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

122,04 (2CH); 123,80 (2CH); 142,46 (C); 145,75 (C); 178,74 (C=S)

IV (ATR), cm^{-1} :

3.242; 1.502; 1.330; 1.273; 1.203; 833

MS (ESI), m/z (%):

213,1 (M+1); 211,3 (M-1)

4.4.10. Síntese dos derivados tiossemicarbazona **75a-x**

4.4.10.1. Síntese da (*E*)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida **75a**

Sólido cinza claro

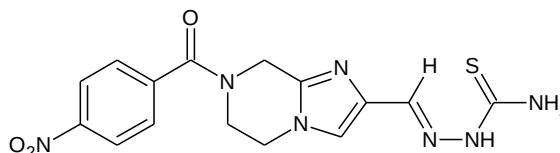
C₁₅H₁₅N₇O₃S

MM: 373,39 g/mol

Rf: 0,35 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 267,1 °C

Rendimento: 60%



À uma solução de 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-2-carbaldeído **71a** (0,06 g; 0,1998 mmol) em etanol (2,6 mL) foi adicionada a hidrazinacarbotioamida **74a** (0,018 g; 0,1998 mmol) e à suspensão resultante 1 gota de HCl concentrado. Esta Mistura permaneceu sob agitação à temperatura ambiente por 1 hora. Posteriormente o precipitado foi filtrado sob funil de vidro sinterizado e lavado com etanol. Foram obtidos 0,041 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75a**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,80 (sl; 1H); 4,21 (s; 3H); 4,90 (sl; 1H); 5,13 (s; 1H); 7,81 (s; 2H); 7,97 (s; 2H); 8,34 (d; *J*= 8,4 Hz; 2H); 8,47 (sl; 2H); 11,80 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

38,04 + 42,74 (CH₂); 38,60 (CH₂); 44,44 (CH₂); 121,45 (CH); 123,86 (2CH); 127,96 (CH); 128,63 (2CH); 136,46 (C); 140,65 (C); 141,65 (C); 148,40 (C-NO₂); 167,89 (C=O); 178,67 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.415; 3.128; 2.985; 1.649; 1.602; 1.546; 1.519; 1.510; 1.433; 1.346; 1.257; 856

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 374,1029; encontrado 374,1021

4.4.10.2. Síntese da (*E*)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-2-il)metileno)-*N*-fenilhidrazinacarbotioamida **75b**

Sólido bege

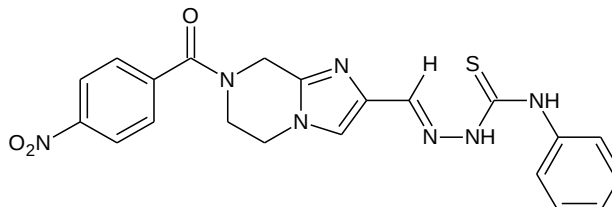
C₂₁H₁₉N₇O₃S

MM: 449,48 g/mol

Rf: 0,31 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 250,6 °C

Rendimento: 88%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-2-carbaldeído **71a** (0,1 g; 0,333 mmol), etanol (4,3 mL), *N*-fenilhidrazinacarbotiamida **74b** (0,07 g; 0,333 mmol) e 2 gotas de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol, metanol e em seguida água destilada. Foram obtidos 0,131 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75b**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,80 (sl; 3H + D₂O); 4,21 (s; 3H) 4,90 (sl; 1H); 5,12 (s; 1H); 7,19 (s; 1H); 7,36 (s; 2H); 7,73 (s; 2H); 7,81 (d; J= 8 Hz; 2H); 8,04 (s; 1H); 8,09 (s; 1H); 8,34 (s; J= 8,4 Hz; 2H); 10,49 (s; 1H); 12,19 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

37,68 + 42,73 (CH₂); 38,47 + 42,93 (CH₂); 45,18 (CH₂); 121,85 (CH); 123,83 (2CH); 125,17 (CH); 125,29 (2CH); 127,87 (2CH); ? (C); 128,47 (2CH); 128,70 (CH); 138,56 (C); 140,71 (C); 141,77 (C); 148,25 (C-NO₂); 167,88 (C=O); 175,81 (C=S),

IV (ATR), cm⁻¹:

3.080; 2.904; 1.633; 1.595; 1.517; 1.440; 1.352; 850

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 450,1342; encontrado 450,1360

4.4.10.3. (*E*)-*N*-(4-clorofenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida **75c**

Sólido bege

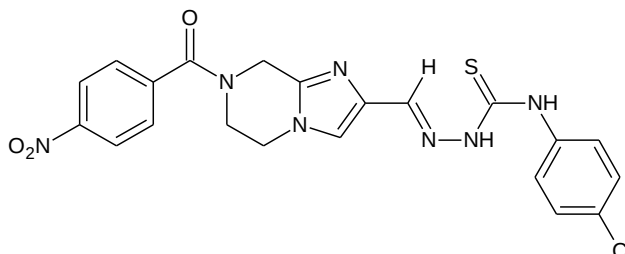
C₂₁H₁₈ClN₇O₃S

MM: 483,93 g/mol

Rf: 0,45 (AcOEt/ MeOH – 93:7)

Pf: 224,2 °C

Rendimento: 73%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-2-carbaldeído **71a** (0,1 g; 0,333 mmol), etanol (4,3 mL), *N*-(4-clorofenil)hidrazinacarbotiamida **74c** (0,067 g; 0,333 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol, metanol e em seguida água destilada. Foram obtidos 0,117 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75c**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,78 (sl; 1H); 4,19 (sl; 3H); 4,88 (m; 2H); 7,41 (sl; 2H); 7,73 (sl; 2H); 7,80 (dl; *J*= 4 Hz; 2H); 7,99 (s; 1H); 8,08 (sl; 1H); 8,34 (dl; *J*= 8Hz; 2H); 10,32 (sl; 1H); 12,13 (sl; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

38,90 + 43,75 (CH₂); 39,87 (CH₂); 44,68 (CH₂); 121,42 (C); 123,84 (2CH); 124,28 (CH); 126,37 (CH); 126,87 (2CH); 127,82 (CH); 127,89 (CH); 128,51 (2CH); 129,18 (2CH); 130,86 (CH); 134,76 (C-Cl); 137,62 (C); 140,89 (C); 141,44 (C); 148,22 (C-NO₂); 167,87 (C=O); 175,63 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.211; 2.958; 1.658; 1.625; 1.517; 1.492; 1.344; 1.257; 1.195; 848; 767

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 484,0953; encontrado 484,0938

4.4.10.4. (*E*)-*N*-(4-fluorofenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida **75d**

Sólido cinza claro

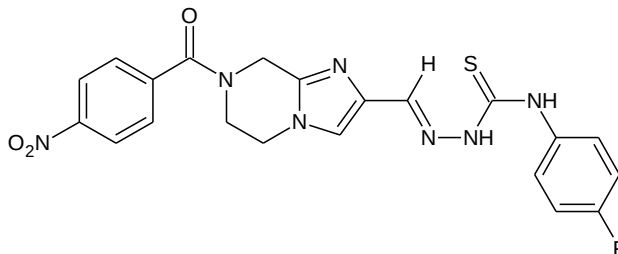
C₂₁H₁₈FN₇O₃S

MM: 467,5 g/mol

Rf: 0,33 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 243,5 °C

Rendimento: 73%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-2-carbaldeído **71a** (0,1 g; 0,333 mmol), etanol (4,3 mL), *N*-(4-fluorofenil)hidrazinacarbotiamida **74d** (0,088 g; 0,333 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com metanol. Foram obtidos 0,113 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75d**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,80 (sl; 2H); 4,21 (s; 2H); 4,88 (sl; 1H); 5,12 (s; 1H); 7,17 (ml; 2H); 7,68 (sl; 2H); 7,81 (s; 2H); 8,03 (sl; 1H); 8,08 (sl; 1H); 8,34 (d; *J* = 8 Hz; 2H); 10,48 (s; 1H); 12,22 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

38,61 + 43,27 (CH₂); 42,69 (CH₂); 45,16 (CH₂); 114,61 (d; *J*² = 22 Hz; 2CH); 121,81 (CH); 123,84 (2CH); 128,52 (2CH); 129,06 (CH); 134,85 (C); 140,66 (C); 141,81 (C); 148,27 (C-NO₂); 161,88 (d; *J*¹ = 234 Hz; C-F); 167,89 (C=O); 176,16 (C=S); ? (C)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.099; 1.639; 1.600; 1.519; 1.504; 1.419; 1.350; 1.193; 839

HRMS (MALDI-TOF) *m/z*: [M+1] calculado 468,1248; encontrado 468,1247

4.4.10.5. (*E*)-*N*-(4-metoxifenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida **75e**

Sólido bege

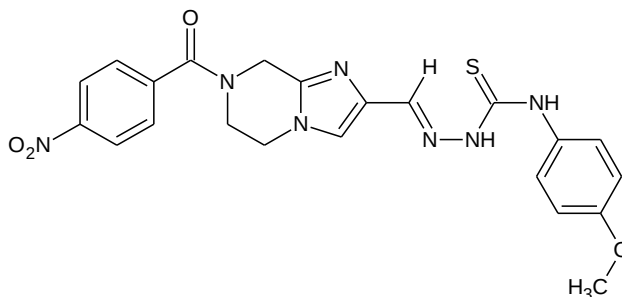
C₂₂H₂₁N₇O₄S

MM: 479,51 g/mol

Rf: 0,4 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 209,2 °C

Rendimento: 93%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-2-carbaldeído **71a** (0,1 g; 0,333 mmol), etanol (4,3 mL), *N*-(4-metoxifenil)hidrazinacarbotiamida **74e** (0,082 g; 0,333 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol e metanol. Foram obtidos 0,148 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75e**

IV (ATR), cm⁻¹:

3.221; 2.920; 1.631; 1.597; 1.512; 1.354; 1.247; 1.193; 835

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 480,1448; encontrado 480,1463

4.4.10.6. (*E*)-*N*-(4-nitrofenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida **75f**

Sólido amarelo

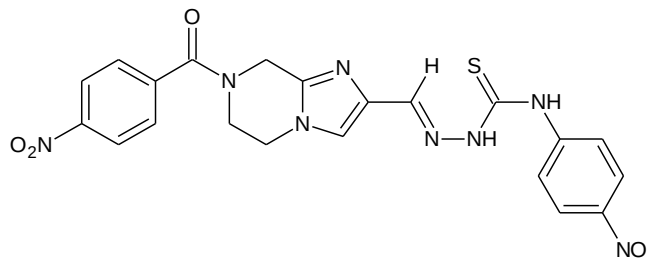
C₂₁H₁₈N₈O₅S

MM: 494,48 g/mol

Rf: 0,4 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 250,5 °C

Rendimento: 87%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-2-carbaldeído **71a** (0,1 g; 0,333 mmol), etanol (4,3 mL), *N*-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotiamida **74f** (0,070 g; 0,333 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com metanol. Foram obtidos 0,144 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75f**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,82 (s; 1H); 4,22 (s; 3H); 4,92 (s; 1H); 5,13 (s; 1H); 7,82 (sl; 2H); 8,08 (sl; 1H); 8,15 (sl; 1H); 8,25 (m; 4H); 8,35 (d; *J* = 8 Hz; 2H); 10,88 (sl; 1H); 12,51 (s; 1H);

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

37,82 + 42,96 (CH₂); 38,52 + 44,04 (CH₂); 46,21 (CH₂); 122,44 (CH); 123,47 (2CH); 123,83 (2CH); 124,43 (2CH); 128,09 (C); 128,49 (C); 130,01 (CH); 140,64 (C); 142,02 (C); 143,50 (C); 144,88 (C-NO₂); 148,25 (C-NO₂); 167,89 (C=O); 175,37 (C=S);

IV (ATR), cm⁻¹:

3.105; 1.643; 1.597; 1.504; 1.330; 1.199; 852

HRMS (MALDI-TOF) *m/z*: [M+1] calculado 495,1193; encontrado 495,1202

4.4.10.7. Síntese da (E)-2-((7-(4-fluorobenzoi)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)hidrazinocarbotoamida **75g**

Sólido branco-rosado

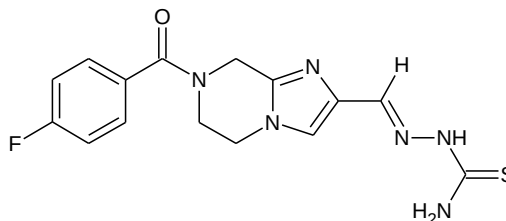
C₁₅H₁₅FN₆OS

MM: 346,38 g/mol

Rf: 0,33 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 265,4 °C

Rendimento: 87%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoi)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71c** (0,078 g; 0,2854 mmol), etanol (3,7 mL), hidrazinacarbotoamida **74a** (0,026 g; 0,2854 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol. Foram obtidos 0,086 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 75g

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,91 (sl; 2H); 4,22 (s; 2H); 5,03 (s; 2H); 7,35 (ft; *J'* = *J''* = 8 Hz; 2H); 7,61 (dd; *J'* = 4 Hz; *J''* = 8 Hz; 2H); 7,96 (s; 1H); 7,97 (s; 1H); 8,45 (sl; 2H); 11,79 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

39,43 (CH₂); ? (CH₂); 45,01 (CH₂); 115,55 (d; *J*² = 21 Hz; 2CH); 121,34 (CH); 127,87 (C); 128,59 (CH); 130,00 (C); 130,82 (d; *J*³ = 3 Hz; 2CH); 141,85 (C); 163,01 (d; *J*¹ = 247 Hz; C-F); 168,88 (C=O); 178,43 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.464; 3.126; 1.637; 1.600; 1.546; 1.502; 1.257; 1.172; 840

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 347,1084; encontrado 347,1083

4.4.10.8. Síntese da (E)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)-N-fenilhidrazinacarbotioamida **75h**

Sólido branco

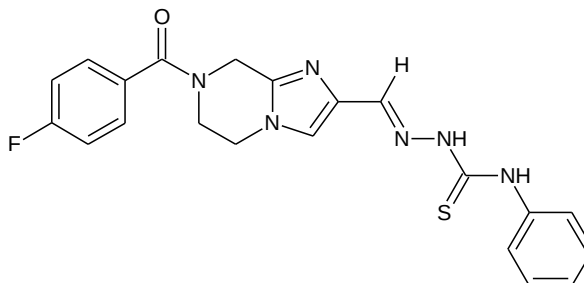
C₂₁H₁₉FN₆OS

MM: 422,47 g/mol

Rf: 0,34 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 217,2 °C

Rendimento: 82%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1., mas, com 2 horas de tempo reacional.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71c** (0,046 g; 0,1683 mmol) etanol (5,0 mL), N-fenilhidrazinacarbotiamida **74b** (0,028 g; 0,1683 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol. Foram obtidos 0,058 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75h**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,91 (sl; 2H); 4,22 (s; 2H); 5,03 (s; 2H); 7,20 (t; *J* = 7,2 Hz; 1H); 7,34 (m; 4H); 7,61 (dd; *J'* = 6Hz; *J''* = 7,6 Hz; 2H); 7,69 (d; *J* = 7,6 Hz; 2H); 8,03 (s; 1H); 8,07 (s; 1H); 10,38 (s; 1H); 12,18 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (CH₂); 38,87 (CH₂); 44,97 (CH₂); 115,56 (d; *J*² = 22 Hz; 2CH); 121,86 (CH); 125,29 (CH); 127,96 (2CH); 128,68 (CH); 129,88 (d; *J*³ = 3 Hz; 2CH); 130,81 (C); 130,84 (C); 138,53 (C); 141,93 (C); 168,88 (C=O); 168,58 (C-F_{HMBC}); 175,87 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.093; 1.643; 1.597; 1.535; 1.425; 1.255; 1.195; 856; 759

MS (ESI), *m/z* (%):

423.1 (M+1); 421.3 (M-1)

4.4.10.9. Síntese do (E)-N-(4-clorofenil)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida **75i**

Sólido branco

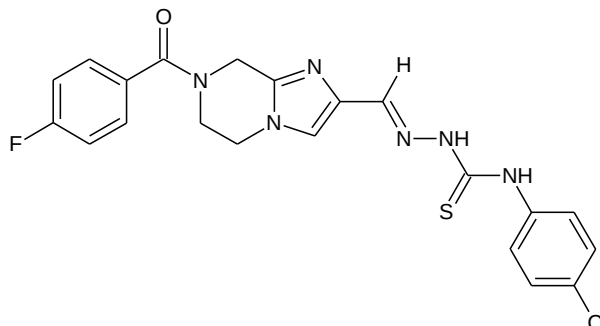
C₂₁H₁₈ClFN₆OS

MM: 456,92 g/mol

Rf: 0,33 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 236,2 °C

Rendimento: 83%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71c** (0,105 g; 0,3842 mmol), etanol (5 mL), N-(4-clorofenil)hidrazinacarbotiamida **74c** (0,077 g; 0,3842 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol. Foram obtidos 0,146 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75i**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,91 (sl; 2H); 4,23 (s; 2H); 5,04 (s; 2H); 7,35 (ft; $J' = J'' = 8,8$ Hz; 2H); 7,42 (d; $J = 8$ Hz; 2H); 7,62 (dd; $J' = 8,4$ Hz; $J'' = 5,6$ Hz; 2H); 7,78 (d; $J = 8$ Hz; 2H); 8,04 (s; 1H); 8,09 (s; 1H); 10,51 (s; 1H); 12,28 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (CH₂); 39,79 (CH₂); 45,10 (CH₂); 115,56 (d; $J^2 = 22$ Hz; 2CH); 121,97 (CH); 126,89 (2CH); 127,82 (2CH); 129,21 (CH); 129,82 (C); 129,97 (2CH); 130,10 (C); 130,81 (C); 137,52 (C); 141,95 (C); 163,02 (d; $J^1 = 246$ Hz; C-F); 168,88 (C=O); 175,82 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.209; 3.095; 1.631; 1.591; 1.535; 1.423; 1.257; 1.091; 829; 761

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 457,1008; encontrado 457,1025

4.4.10.10. (*E*)-2-((7-(4-fluorobenzoyl)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-*a*]pirazin-2-il)metileno)-*N*-(4-fluorofenil)hidrazinacarbotioamida **75j**

Sólido branco

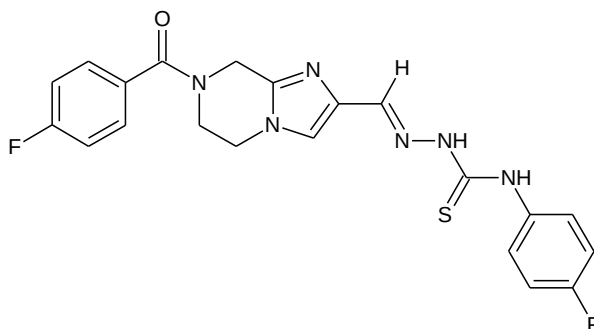
C₂₁H₁₈F₂N₆OS

MM: 440,46 g/mol

Rf: 0,45 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 239,4 °C

Rendimento: 64%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoyl)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-*a*]pirazina-2-carbaldeído **71c** (0,082 g; 0,3 mmol), etanol (3,9 mL), *N*-(4-fluorofenil)hidrazinacarbotiamida **74d** (0,055 g; 0,3 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol e em seguida metanol. Foram obtidos 0,085 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75j**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,91 (sl; 2H); 4,22 (s; 2H); 5,03 (s; 2H); 7,18 (ft; *J'* = *J''* = 8,4 Hz; 2H); 7,34 (ft; *J'* = *J''* = 7,2 Hz; 2H); 7,61 (dd; *J'* = 4 Hz; *J''* = 8 Hz; 2H); 7,70 (dd; *J'* = 4 Hz; *J''* = 8 Hz; 2H); 8,03 (s; 1H); 8,07 (s; 1H); 10,51 (s; 1H); 12,20 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (CH₂); 38,8 (CH₂); 45,05 (CH₂); 114,52 (d; *J*² = 22 Hz; 2CH); 115,55 (d; *J*² = 22 Hz; 2CH); 121,86 (CH); 127,45 (2CH); 128,33 (C); 128,72 (CH); 130,02 (2CH); 130,83 (C); 134,89 (C); 141,90 (C); 159,47 (d; *J*¹ = 240 Hz; C-F); 163,01 (d; *J*¹ = 247 Hz; C-F); 168,88 (C=O); 176,12 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.082; 1.637; 1.604; 1.548; 1.508; 1.429; 1.259; 1.230; 1.070; 839

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 441,1303; encontrado 441,1297

4.4.10.11. Síntese da (E)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)-N-(4-metoxifenil)hidrazinacarbotioamida **75k**

Sólido bege

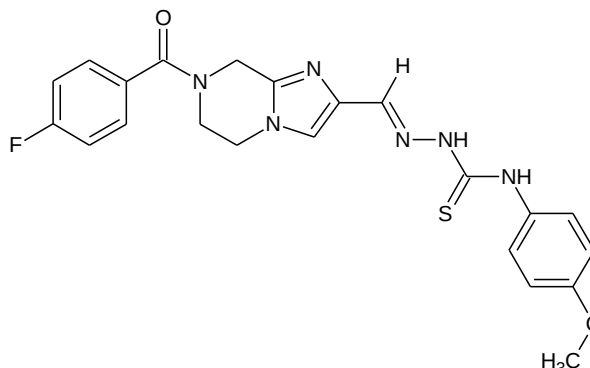
C₂₂H₂₁FN₆O₂S

MM: 452,5 g/mol

Rf: 0,38 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 238,7 °C

Rendimento: 86%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71c** (0,07 g; 0,2561 mmol), etanol (3,3 mL), N-(4-metoxifenil)hidrazinacarbotiamida **74e** (0,050 g; 0,2561 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol. Foram obtidos 0,1 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75k**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,76 (s; 3H); 3,91 (sl; 2H); 4,22 (s; 2H); 5,03 (s; 2H); 6,91 (d; *J* = 8,4 Hz; 2H); 7,34 (ft; *J'* = *J''* = 8,4 Hz; 2H); 7,61 (dd; *J'* = 6 Hz; *J''* = 7,6 Hz; 2H); 7,52 (d; *J* = 8,4 Hz; 2H); 8,02 (s; 1H); 8,05 (s; 1H); 10,33 (s; 1H); 12,09 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (CH₂); 39,39 (CH₂); 45,00 (CH₂); 55,20 (CH₃); 113,17 (2CH); 115,55 (2CH); 121,68 (CH) 126,93 (2CH); 128,40 (CH); 129,95 (2CH); 130,83 (C); 131,43 (C); 141,86 (C); 156,84 (C); 163,01 (d; *J*¹ = 247 Hz; C-F); 168,88 (C=O); 176,09 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.205; 1.620; 1.516; 1.436; 1,242; 1.193; 827

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 453,1503; encontrado 453,1507

4.4.10.12. Síntese da (E)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)-N-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotioamida **75l**

Sólido marrom

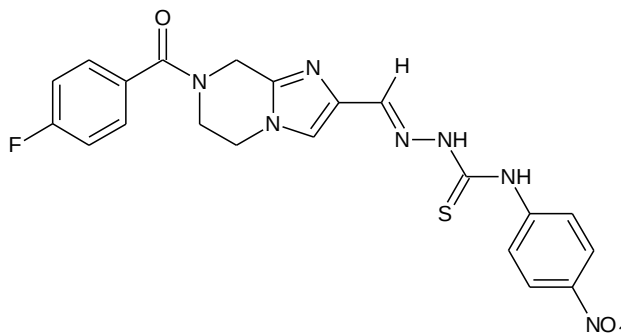
C₂₁H₁₈FN₇O₃S

MM: 467,47 g/mol

Rf: 0,3 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 239,7 °C

Rendimento: 93%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71c** (0,07 g; 0,2561 mmol), etanol (3,3 mL), N-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotiamida **74f** (0,054 g; 0,3659 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol. Foram obtidos 0,111 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 75l

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,93 (sl; 2H); 4,23 (sl; 2H); 5,04 (sl; 2H); 7,35 (ft; $J' = J'' = 8$ Hz; 2H); 7,62 (dd; $J' = 4$ Hz; $J'' = 8$ Hz; 2H); 8,06 (s; 1H); 8,13 (s; 1H); 8,24 (m; 4H); 10,82 (sl; 1H); 12,50 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (CH₂); 39,42 (CH₂); 45,04 (CH₂); 115,56 (d; $J^2 = 22$ Hz; 2CH); 122,43 (CH); 123,50 (2CH); 124,39 (2CH); 128,14 (C); 130,07 (3CH); 130,83 (C); 142,07 (C); 143,52 (C); 144,88 (C-NO₂); 163,02 (d; $J^1 = 246$ Hz; C-F); 168,88 (C=O); 175,38 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.261; 3.072; 2.899; 1.633; 1.598; 1.544; 1.504; 1.327; 1.199; 852

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 468,1248; encontrado 468,1241

4.4.10.13. Síntese da (*E*)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-3-il)metileno)hidrazinacarbotioamida **75m**

Sólido bege

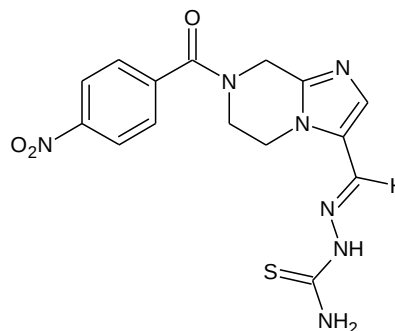
C₁₅H₁₅N₇O₃S

MM: 373,39 g/mol

Rf: 0,43 (AcOEt/ MeOH – 98:2)

Pf: 256,5 °C

Rendimento: 99%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-3-carbaldeído **71b** (0,07 g; 0,2331 mmol), etanol (3,0 mL), hidrazinacarbotiamida **74a** (0,021 g; 0,2331 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol. Foram obtidos 0,086 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 75m

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,80 (sl; 1H); 4,14 (sl; 1H); 4,38 (sl; 2H); 5,08 (sl; 1H); 5,13 (sl; 1H); 7,80 (sl; 2H); 8,09 (sl; 2H); 8,34 (sl; 2H); 8,99 (s; 2H); 9,75 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

37,87+ 42,92 (CH₂); 44,08 (CH₂); 39,14 + 40,13 (CH₂); 122,32 (CH); 123,81 (2CH); 127,22 (C); 128,58 (2CH); 130,83 (CH); 140,63 (C); 145,52 (C); 148,25 (C-NO₂); 167,73 (C=O); 179,96 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.439; 3.107; 2.594; 1.629; 1.606; 1.595; 1.521; 1.427; 1.355; 1.259; 852

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 374,1029; encontrado 374,1028

4.4.10.14. Síntese da (*E*)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-3-il)metileno)-*N*-fenilhidrazinacarbotioamida **75n**

Sólido bege

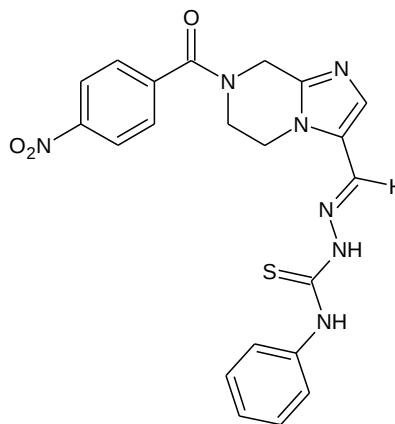
C₂₁H₁₉N₇O₃S

MM: 449,48 g/mol

Rf: 0,4 (AcOEt/ MeOH – 93:7)

Pf: 245 °C

Rendimento: 71%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-3-carbaldeído **71b** (0,08 g; 0,2664 mmol), etanol (3,5 mL), *N*-fenilhidrazinacarbotiamida **74b** (0,044 g; 0,2664 mmol) e 1 gotas de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do **74a** sólido com etanol. Foram obtidos 0,085 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75n**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,81 (sl; 1H); 4,16 (sl; 1H); 4,53 (sl; 2H); 4,92 (sl; 1H); 5,13 (sl; 1H); 7,22 (sl; 1H); 7,37 (sl; 2H); 7,44 (sl; 1H); 7,54 (d; *J* = 8 Hz; 2H); 7,82 (d; *J* = 8 Hz; 2H); 8,19 (s; 1H); 8,34 (sl; 2H); 9,75 (s; 1H); 12,06 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

38,47 + 43,07 (CH₂); 45,14 (CH₂); 39,68 + 40,39 (CH₂); 118,71 (CH); 123,06 (C); 123,81 (2CH); 125,67 (3CH); 128,10 (2CH); 128,67 (2CH); 131,08 (CH); 138,84 (C); 140,67 (C); 142,30 (C); 148,27 (C-NO₂); 167,81 (C=O); 176,10 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.269; 2.459; 1.654; 1.598; 1.523; 1.494; 1.338; 1.184; 850

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 150,1342; encontrado 150,1347

4.4.10.15. (*E*)-*N*-(4-clorofenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-3-il)metileno)hidrazinacarbotioamida **75o**

Sólido bege

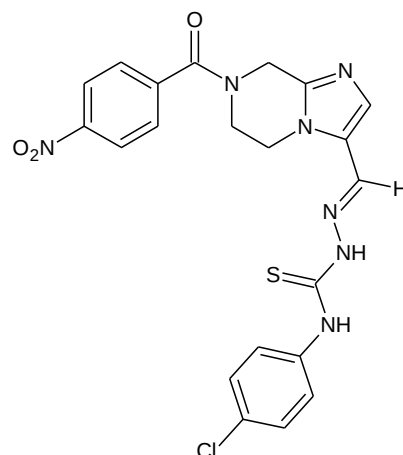
C₂₁H₁₈ClN₇O₃S

MM: 483,93 g/mol

Rf: 0,38 (AcOEt/ MeOH – 93:7)

Pf: 231,6 °C

Rendimento: 89%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-3-carbaldeído **71b** (0,065 g; 0,2164 mmol), etanol (2,8 mL), *N*-(4-clorofenil)hidrazinacarbotiamida **74c** (0,044 g; 0,2164 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol, metanol e em seguida água destilada. Foram obtidos 0,093 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75o**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,80 (sl; 1H); 4,15 (sl; 1H); 4,52 (sl; 2H); 4,89 (sl; 1H); 5,12 (sl; 1H); 7,43 (sl; 2H); 7,59 (d; J= 8 Hz; 2H); 7,82 (d; J= 8 Hz; 2H); 8,13 (sl; 1H); 8,18 (sl; 1H); 8,34 d; J= 8 Hz; 2H); 9,79 (s; 1H); 12,11 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

38,04 + 43,04 (CH₂); 45,16 (CH₂); 39,04 (CH₂); 123,80 (2CH); 123,83 (CH); 127,27 (2CH); ? (C); 127,99 (2CH); 128,66 (2CH); 131,58 (C-Cl); 137,82 (C); 140,67 (C); 142,46 (C); 148,27 (C-NO₂); 167,76 (C=O); 175,93 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.263; 1.653; 1.600; 1.519; 1.492; 1.340; 1.261; 1.186; 829

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 484,0953; encontrado 484,0948

4.4.10.16. (*E*)-*N*-(4-fluorofenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-3-il)metileno)hidrazinacarbotioamida **75p**

Sólido bege

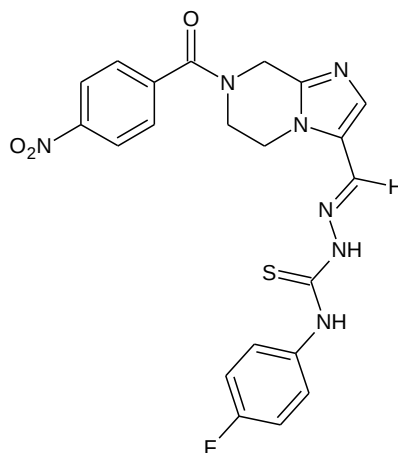
C₂₁H₁₈FN₇O₃S

MM: 467,5 g/mol

Rf: 0,46 (AcOEt/ MeOH – 93:7)

Pf: 234,2 °C

Rendimento: 88%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-3-carbaldeído **71b** (0,08 g; 0,2664 mmol), etanol (3,45 mL), *N*-(4-fluorofenil)hidrazinacarbotiamida **74d** (0,05 g; 0,2664 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol. Foram obtidos 0,11 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75p**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,38 (sl; 1H); 4,15 (sl; 1H); 4,52 (s; 2H); 4,90 (sl; 1H); 5,12 (sl; 1H); 7,20 (sl; 2H); 7,52 (sl; 2H); 7,82 (d; *J*= 8 Hz; 2H); 8,18 (sl; 2H); 8,34 (d; *J*= 8 Hz; 2H); 9,73 (s; 1H); 12,06 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

38,67 + 43,02 (CH₂); 45,13 (CH₂); 39,93 + 44,53 (CH₂); 114,87 (d; *J*²= 22 Hz; 2CH); 123,59 (CH); 123,79 (2CH); 127,23 (C); 128,06 (2CH); 128,50 (2CH); 131,38 (CH); 135,18 (C); 140,67 (C); 142,34 (C); 148,27 (C-NO₂); 166,63 (d; *J*¹= 221 Hz; C-F); 176,44 (C=O); 179,79 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.265; 1.651; 1.606; 1.525; 1.508; 1.498; 1.355; 1.263; 835

HRMS (MALDI-TOF) *m/z*: [M+1] calculado 468,1248; encontrado 468,1244

4.4.10.17. (*E*)-*N*-(4-metóxfenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-3-il)metileno)hidrazinacarbotioamida **75g**

Sólido amarelo claro

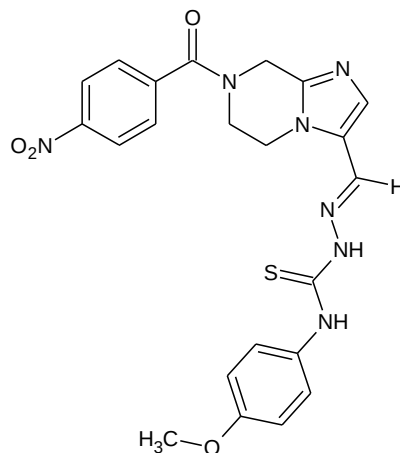
C₂₂H₂₁N₇O₄S

MM: 479,51 g/mol

Rf: 0,41 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 259,3 °C

Rendimento: 92%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-3-carbaldeído **71b** (0,07 g; 0,2331 mmol), etanol (3,0 mL), *N*-(4-metóxfenil)hidrazinacarbotiamida **74e** (0,046 g; 0,2331 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol. Foram obtidos 0,103 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75g**

IV (ATR), cm⁻¹:

3.263; 2.124; 2.493; 1.651; 1.597; 1.512; 1.346; 1.261; 1.176; 827

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 480,1448; encontrado 480,1455

4.4.10.18. (*E*)-*N*-(4-nitrofenil)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-3-il)metileno)hidrazinacarbotioamida **75r**

Sólido amarelo claro

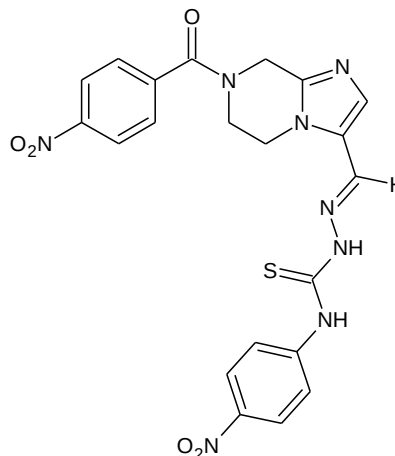
C₂₁H₁₈N₈O₅S

MM: 494,48 g/mol

Rf: 0,48 (AcOEt/ MeOH – 93:7)

Pf: 237,4 °C

Rendimento: 94%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-3-carbaldeído **71b** (0,7 g; 0,2331 mmol), etanol (3,0 mL), *N*-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotiamida **74f** (0,05 g; 0,2331 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol. Foram obtidos 0,108 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75r**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,81 (sl; 1H); 4,16 (sl; 1H); 4,56 (sl; 2H); 4,92 (sl; 1H); 5,14 (sl; 1H); 7,83 (d; J= 8 Hz; 2H); 8,04 (d; J= 8 Hz; 2H); 8,23 (sl; 4H); 8,34 (d; J= 8 Hz; 2H); 10,20 (sl; 1H); 12,39 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

38,40 + 42,95 (CH₂); 44,30 + 39,39 (CH₂); 46,23 (CH₂); 123,76 (2CH); 123,81 (2CH); 124,20 (2CH); 127,19 (C); 128,58 (2CH); 132,24 (2CH); 140,66 (C); 142,62 (C); 143,52 (C); 145,16 (C-NO₂); 148,29 (C-NO₂); 167,82 (C=O); 175,50 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.250; 3.126; 1.649; 1.598; 1.529; 1.516; 1.342; 1.261; 1.190; 852

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 495,1193; encontrado 495,1203

4.4.10.19. Síntese da (*E*)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-3-il)metileno)hidrazinocarbotioamida **75s**

Sólido rosa claro

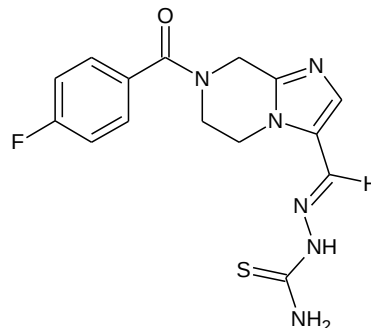
C₁₅H₁₅FN₆OS

MM: 346,38 g/mol

Rf: 0,2 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 238,1 °C (degradou)

Rendimento: 81%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazina-3-carbaldeído **71d** (0,1 g; 0,3659 mmol), etanol (4,75 mL), hidrazinocarbotioamida **74a** (0,033 g; 0,3659 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol. Foram obtidos 0,103 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 75s

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,89 (sl; 2H); 4,46 (t; *J* = 6 Hz; 2H); 5,04 (sl; 2H); 7,35 (ft; *J'* = *J''* = 8 Hz; 2H); 7,62 (dd; *J'* = 4 Hz; *J''* = 8 Hz; 2H); 8,09 (sl; 2H); 9,75 (s; 2H); 11,67 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (CH₂); 39,07 (CH₂); 45,89 (CH₂); 115,58 (d; *J*² = 21 Hz; 2H); 122,26 (CH); 127,23 (C); 130,00 (2CH); 130,87 (CH); 142,45 (C); 145,53 (C); 163,04 (d; *J*¹ = 243 Hz; C-F); 168,74 (C=O); 179,98 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.456; 3.118; 1.610; 1.604; 1.504; 1.363; 1.099; 1.072; 846

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 347,1084; encontrado 347,1087

4.4.10.20. Síntese da (E)-2-((7-(4-fluorobenzoi)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)-N-fenilhidrazinacarbotioamida **75t**

Sólido bege

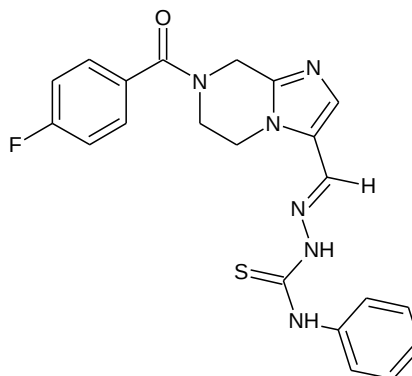
C₂₁H₁₉FN₆OS

MM: 422,47 g/mol

Rf: 0,27 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 220,7 °C

Rendimento: 80%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoi)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldeído **71d** (0,092 g; 0,3366 mmol), etanol (4,37 mL), *N*-fenilhidrazinacarbotiamida **74b** (0,052 g; 0,3366 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol. Foram obtidos 0,114 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75t**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,93 (sl; 2H); 4,52 (t; *J*= 5,6 Hz; 2H); 5,02 (s; 2H); 7,23 (t; *J*= 7,2 Hz; 1H); 7,36 (m; 4H); 7,53 (d; *J*= 7,6 Hz; 2H); 7,62 (dd; *J*'= 5,6 Hz; *J*''= 8,4 Hz; 2H); 8,10 (s; 1H); 8,17 (s; 1H); 9,73 (s; 1H); 12,04 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (CH₂); 39,72 (CH₂); 45,32 (CH₂); 115,57 (d; *J*²= 22 Hz; 2CH); 123,11 (C_{HMBC}); 123,11 (CH); 125,58 (CH); 125,87 (2CH); 128,13 (2CH); 129,99 (2CH); 130,84 (C); 131,18 (CH); 138,84 (C); 142,53 (C); 163,02 (d; *J*¹= 247 Hz; C-F); 168,74 (C=O); 176,10 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.332; 3.118; 2.970; 1.629; 1.600; 1.546; 1.427; 1.234; 1.174; 750

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 423,1397; encontrado 423,1401

4.4.10.21. Síntese do (E)-N-(4-clorofenil)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)hidrazinacarbotioamida **75u**

Sólido amarelo

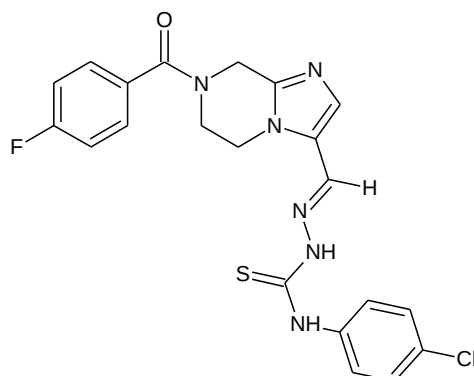
C₂₁H₁₈ClFN₆OS

MM: 456,92 g/mol

Rf: 0,32 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 229,7 °C

Rendimento: 23%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldeído **71d** (0,177 g; 0,6477 mmol), etanol (8,5 mL), N-(4-clorofenil)hidrazinacarbotiamida **74c** (0,1306 g; 0,6477 mmol) e 2 gotas de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol e em seguida metanol. Foram obtidos 0,067 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75u**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,92 (sl; 2H); 4,53 (t; *J* = 5,6 Hz; 2H); 5,03 (s; 2H); 7,34 (ft; *J'* = *J''* = 8,8 Hz; 2H); 7,43 (d; *J* = 8,8 Hz; 2H); 7,58 (d; *J* = 8,4 Hz; 2H); 7,62 (dd; *J'* = 5,2 Hz; *J''* = 8,8 Hz; 2H); 8,12 (s; 1H); 8,17 (s; 1H); 9,79 (s; 1H); 12,13 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (CH₂); 40,17 (CH₂); 45,12 (CH₂); 115,58 (d; *J*² = 22 Hz; 2CH); 123,34 (CH); 127,47 (2CH); 128,02 (2CH); 129,57 (C); 130,00 (2CH); 130,85 (C); 131,52 (CH); 137,83 (C-Cl); 142,60 (C); 163,03 (d; *J*¹ = 247 Hz; C-F); 168,74 (C=O); 176,08 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.317; 1.627; 1.593; 1.537; 1.489; 1.172; 1.089; 821; 765

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 457,1008; encontrado 457,1001

4.4.10.22. (E)-2-((7-(4-fluorobenzoyl)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)-N-(4-fluorofenil)hidrazinacarbotioamida **75v**

Sólido bege

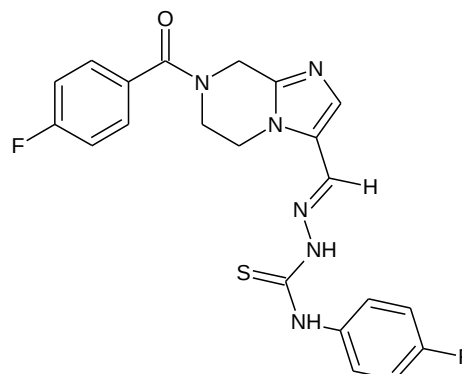
C₂₁H₁₈F₂N₆OS

MM: 440,46 g/mol

Rf: 0,35 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 271,9 °C

Rendimento: 88%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoyl)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldeído **71d** (0,1 g; 0,3659 mmol), etanol (4,75 mL), N-(4-fluorofenil)hidrazinacarbotiamida **74d** (0,068 g; 0,3659 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol. Foram obtidos 0,142 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75v**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,93 (sl; 2H); 4,54 (sl; 2H); 5,06 (sl; 2H); 7,22 (ft; J' = J'' = 4 Hz; 2H); 7,34 (ft; J' = J'' = 8 Hz; 2H); 7,52 (sl; 2H); 7,62 (sl; 2H); 8,19 (s; 2H); 9,77 (s; 1H); 12,11 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (CH₂); 39,87 (CH₂); 45,25 (CH₂); 114,78 (d; J² = 23 Hz; 2CH); 115,58 (d; J² = 22 Hz; 2CH); 122,51 (CH); 127,34 (C); 128,21 (d; J³ = 7 Hz; 2CH); 130,03 (d; J³ = 7 Hz; 2CH); 130,84 (C); 131,21 (CH); 135,23 (C); 142,42 (C); 159,78 (d; J¹ = 241 Hz; C-F); 163,03 (d; J¹ = 246 Hz; C-F); 167,47 (C=O); 176,52 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.315; 3.109; 1.627; 1.602; 1.537; 1.406; 1.232; 1.178; 825

MS (ESI), m/z (%):

441,2 (M+1); 439,3 (M-1)

4.4.10.23. Síntese da (E)-2-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)-N-(4-metoxifenil)hidrazinacarbotioamida **75w**

Sólido bege

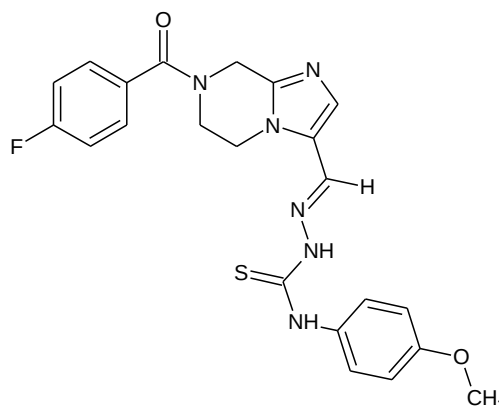
C₂₂H₂₁FN₆O₂S

MM: 452,5 g/mol

Rf: 0,32 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 259,7 °C

Rendimento: 86%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldeído **71d** (0,1 g; 0,3659 mmol), etanol (4,75 mL), N-(4-metoxifenil)hidrazinacarbotiamida **74e** (0,071 g; 0,3659 mmol) e 1 gota de HCl concentrado. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol. Foram obtidos 0,143 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75w**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,76 (s; 3H); 3,94 (sl; 2H); 4,53 (sl; 2H); 5,05 (sl; 2H); 6,94 (d; *J* = 8 Hz; 2H); 7,36 (m; 4H); 7,63 (dd; *J'* = 4 Hz; *J''* = 8 Hz; 2H); 8,15 (sl; 1H); 8,17 (sl; 1H); 9,68 (s; 1H); 11,98 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (2CH₂); 45,25 (CH₂); 55,24 (CH₃); 113,34 (2CH); 115,58 (d; *J*² = 22 Hz; 2CH); 122,28 (CH); 127,41 (C); 127,65 (2CH); 129,99 (2C); 130,82 (2CH); 131,72 (CH); 142,34 (C); 157,16 (C); 163,03 (d; *J*¹ = 247 Hz; C-F); 168,74 (C=O); 176,53 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.305; 3.105; 1.627; 1.600; 1.531; 1.510; 1.404; 1.228; 1.180; 825

MS (ESI), *m/z* (%):

453,2 (M+1); 451,4 (M-1)

4.4.10.24. Síntese da (E)-2-((7-(4-fluorobenzil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)-N-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotioamida **75x**

Sólido amarelo

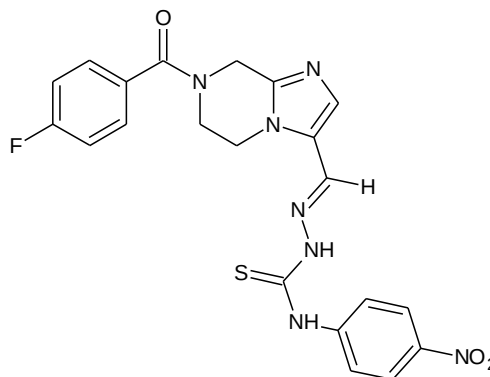
C₂₁H₁₈FN₇O₃S

MM: 467,47 g/mol

Rf: 0,23 (AcOEt/ MeOH – 95:5)

Pf: 224,1 °C

Rendimento: 76%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.10.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldeído **71d** (0,145 g; 0,53 mmol), etanol (7,0 mL), N-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotiamida **74f** (0,112 g; 0,53 mmol) e 1 gota de HCl conc. A purificação foi feita pela lavagem do sólido com etanol. Foram obtidos 0,188 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **75x**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,94 (sl; 2H); 4,54 (t; *J*= 5,2 Hz; 2H); 5,01 (s; 2H); 7,34 (ft; *J'*= *J''*= 8,8 Hz; 2H); 7,62 (dd; *J'*= 5,6 Hz; *J''*= 8,4 Hz; 2H); 8,02 (d; *J*= 9,2 Hz; 2H); 8,09 (sl; 1H); 8,20 (s; 1H); 8,25 (d; *J*= 9,2 Hz; 2H); 10,12 (s; 1H); 12,36 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (CH₂); 40,05 (CH₂); 45,17 (CH₂); 115,58 (d; *J*²= 21 Hz; 2CH); 123,78 (CH); 124,10 (CH); 124,27 (2CH); 127,08 (C); 130,05 (d; *J*³= 6 Hz; 2CH); 130,80 (C); 132,36 (2CH); 142,85 (C); 143,55 (C); 145,14 (C-NO₂); 163,04 (d; *J*¹= 247 Hz; C-F); 168,75 (C=O); 175,46 (C=S)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.325; 1.649; 1.598; 1.560; 1.508; 1.334; 1.253; 1.176; 846

HRMS (MALDI-TOF) m/z: [M+1] calculado 468,1248; encontrado 468,1241

4.4.11. Síntese dos derivados tiazolidinona

4.4.11.1. Síntese da (Z)-2-((Z)-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-yl)metileno)hidrazona)tiazolidin-4-ona **77a**

Sólido amarelo claro

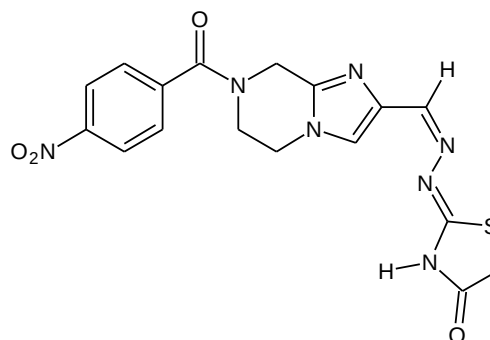
C₁₇H₁₅N₇O₄S

MM: 413,41 g/mol

Rf: 0,34 (AcOEt/MeOH – 9:1)

Pf: 235,9 °C

Rendimento: 63%



À uma suspensão de (E)-2-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida **75a** (0,075 g; 0,2008 mmol) e acetato de sódio anidro (0,05 g; 0,6075 mmol) em etanol (4 mL) foi adicionado o bromoacetato de etila **76** (0,022 mL; 0,2008 mL), à temperatura ambiente. A mistura reacional ficou sob agitação nestas condições por 3 horas.

A suspensão foi filtrada e o sólido foi lavado com etanol. Foram obtidos 0,052 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **77a**

IV (ATR), cm⁻¹:

3.404; 3.105; 1.720; 1.631; 1.598; 1.512; 1.344; 1.247; 983; 852

MS (ESI), m/z (%):

414,2 (M+1)

4.4.11.2. Síntese da (Z)-3-(4-metoxifenil)-2-((Z)-((7-(4-nitrobenzoi)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)hidrazono)tiazolidin-4-ona **77b**

Sólido branco

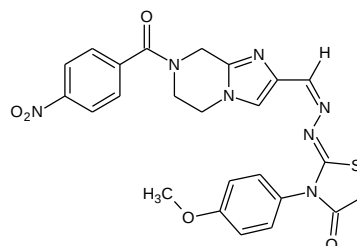
C₂₄H₂₁N₇O₅S

MM: 519,53 g/mol

Rf: 0,31 (AcOEt/MeOH – 95:5)

Pf: 250,4 °C

Rendimento: 42,5%



À uma suspensão de (E)-2-((7-(4-nitrobenzoi)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida **75e** (0,05 g; 0,1042 mmol) e acetato de sódio anidro (0,025 g; 0,3126 mmol) em etanol (2 mL) foi adicionado o bromoacetato de etila (0,011 mL; 0,1042 mL). A mistura reacional foi levada ao refluxo e ficou nestas condições por 2,5 horas.

A suspensão foi filtrada e o sólido foi lavado com etanol. Foram obtidos 0,023 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 77b

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,70 (sl; 1H); 3,81 (s; 3H); 3,93 (s; 1H); 4,04 (sl; 2H); 4,10 (sl; 2H); 4,58 (sl; 1H); 4,84 (sl; 1H); 7,03 (d; *J*= 4Hz; 2H); 7,26 (m; 2H); 7,62 (s; 1H); 7,78 (sl; 2H); 8,07 (sl; 1H); 8,32 (d; *J*= 8 Hz; 2H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

32,06 (2CH₂); 41,62 + 46,13 (CH₂); 43,99 (CH₂); 55,33 (CH₃); 114,18 (2CH); 121,99 (CH); 123,79 (2CH); 127,59 (C); 128,40 (2CH); 128,93 (C); 129,28 (2CH); 135,83 (C); 148,05 (C-NO₂); 152,04 (CH); 159,03 (C); 168,28 (C=O); 171,98 (C=O); 141,96 (C); ? (C)

IV (ATR), cm⁻¹:

1.707; 1.624; 1.598; 1.573; 1.352; 1.246; 935; 844

MS (ESI), *m/z* (%):

520,3 (M+1)

4.4.12. Síntese dos derivados tiazolidina-2,4-diona 78a-r

4.4.12.1. (Z)-5-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona 78a

Sólido marrom

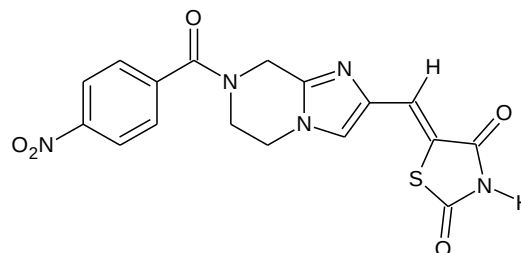
C₁₇H₁₃N₅O₅S

MM: 399,39 g/mol

Rf: 0,37 (Ciclohexano/AcOEt – 1:9)

Pf: 278,4 °C

Rendimento: 47%



À uma solução de 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído 71a (0,075 g; 0,2497 mmol) em tolueno (6 mL) foi adicionada a tiazolidina-2,4-diona 53 (0,03 g; 0,2497 mmol) e posteriormente o ácido acético (0,018 mL; 0,1998 mmol) e a piperidina (0,019 mL; 0,1998 mmol), nessa ordem. A reação foi mantida em refluxo por uma hora e então foi concentrada em rota-evaporador. Após resfriamento, o produto sólido foi purificado por lavagens com etanol e metanol. Foram obtidos 0,047 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 78a

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,72 (sl; 1H); 4,12 (sl; 3H); 4,62 (sl; 1H); 4,87 (sl; 1H); 7,61 (s; 1H); 7,76 (s; 3H); 8,32 (d; *J*= 5,6 Hz; 2H); 12,15 (sl; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

38,45 + 43,72 (CH₂); 41,04 + 45,85 (CH₂); 44,16 (CH₂); 119,65 (C); 123,40 (CH); 123,81 (CH); 125,30 (CH); 128,44 (CH); 135,15 (C); 141,14 (C); 142,48 (C); 148,09 (C-NO₂); 167,73 (2 C=O); 170,84 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.140; 1.726; 1.631; 1.614; 1.516; 1.440; 1.305; 852

MS (ESI), *m/z* (%):

400,1 (M+1); 398,3 (M-1)

4.4.12.2. Síntese da (Z)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78b**

Sólido bege escuro

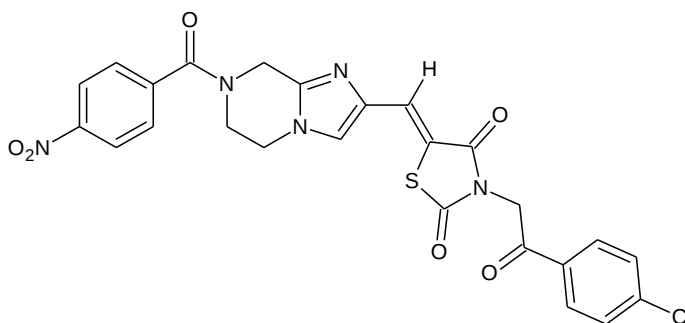
C₂₅H₁₈ClN₅O₆S

MM: 551,95 g/mol

Rf: 0,39 (Ciclohexane/AcOEt – 1:9)

Pf: 283,8 °C

Rendimento: 76%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71a** (0,06 g; 0,1998 mmol), tolueno (5 mL), 3-[2-(4-clorofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona **55a** (0,054 g; 0,1998 mmol), ácido acético (0,009 mL; 0,1598 mmol) e piperidina (0,015 mL; 0,1598 mmol). A purificação foi feita por lavagens do sólido com etanol e metanol. Foram obtidos 0,084 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 78b

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,74 (sl; 1H); 4,15 (sl. 3H); 4,66 (sl; 1H); 4,91 (s; 1H); 5,25 (s; 2H); 7,67 (d; *J*= 8,4 Hz; 2H); 7,80 (d; *J*= 8 Hz; 2H); 7,85 (s; 2H); 8,08 (d; *J*= 6,8 Hz; 2H); 8,33 (d; *J*= 8,4 Hz; 2H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

39,29 + 43,74 (CH₂); 41,09 + 45,98 (CH₂); 44,33 (CH₂); 47,17 (CH₂); 116,62 (C); 123,82 (2CH); 125,34 (CH); 126,23 (CH); 128,46 (2CH); 129,11 (2CH); 130,13 (2CH); 132,55 (C); 135,05 (C); 139,28 (C-Cl); 141,40 (C); 142,73 (C); 148,10 (C-NO₂); 165,45 (C=O); 167,89 (C=O); 169,77 (C=O); 190,78 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

1.695; 1.666; 1.631; 1.612; 1.517; 1.375; 830; 808

MS (ESI), *m/z* (%):

552,2 (M+1)

4.4.12.3. Síntese da (Z)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78c**

Sólido bege

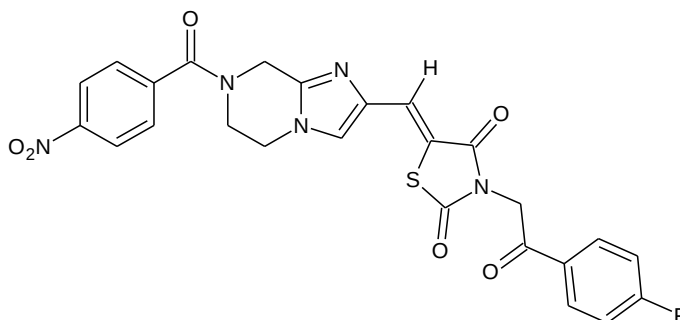
C₂₅H₁₈FN₅O₆S

MM: 535,5 g/mol

Rf: 0,40 (Ciclohexano/AcOEt – 1:9)

Pf: 257,7 °C

Rendimento: 44%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71a** (0,08 g; 0,2664 mmol), tolueno (6,6 mL), 3-[2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona **55c** (0,067 g; 0,2664 mmol), ácido acético (0,012 mL; 0,2131 mmol) e piperidina (0,020 mL; 0,2131 mmol). A purificação foi feita por lavagens do sólido com etanol. Foram obtidos 0,062 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **78c**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,74 (sl; 1H); 4,15 (sl; 3H); 4,66 (sl; 1H); 4,91 (sl; 1H); 5,25 (s; 2H); 7,34 (ft; J' = J'' = 9,2 Hz; 2H); 7,80 (d; J = 7,6 Hz); 7,85 (sl; 1H); 8,16 (s; 2H); 8,33 (d; J = 6,8 Hz; 2H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

41,05 + 43,77 (CH₂); 40,81 + 45,98 (CH₂); 44,32 (CH₂); 47,12 (CH₂); 116,08 (d; J² = 22 Hz; 2CH); 116,66 (C); 123,81 (2CH); 125,30 (CH); 126,20 (CH); 128,43 (2CH); 130,65 (C); 131,35 (d; J³ = 10 Hz; 2CH); 135,02 (C); 141,35 (C); 142,70 (C); 148,10 (C-NO₂); 165,47 (C=O); 165,59 (d; J¹ = 252 Hz; C-F); 167,78 (C=O); 169,76 (C=O); 190,23 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

3.105; 1.722; 1.691; 1.668; 1.649; 1.608; 1.595; 1.357; 1.230; 850; 833

MS (ESI), m/z (%):

536,2 (M+1)

4.4.12.4. Síntese da (Z)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78d**

Sólido marrom

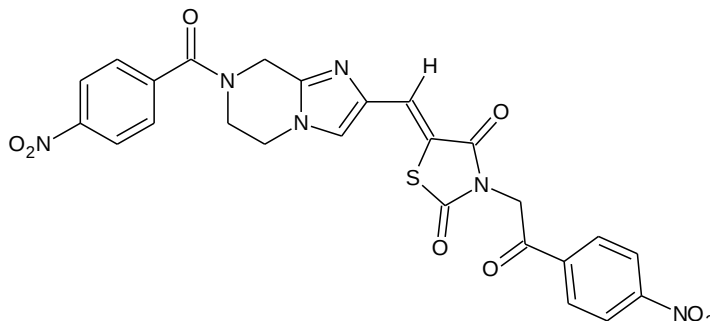
C₂₅H₁₈N₆O₈S

MM: 562,51 g/mol

Rf: 0,45 (AcOEt 100%)

Pf: 248,1 °C

Rendimento: 91%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71a** (0,07 g; 0,2331 mmol), tolueno (5,8 mL), 3-[2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona **55b** (0,065 g; 0,2331 mmol), ácido acético (0,010 mL; 0,1864 mmol) e piperidina (0,017 mL; 0,1864 mmol). A purificação foi feita por lavagens do sólido com etanol e metanol. Foram obtidos 0,119 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **78d**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,74 (sl; 1H); 4,15 (sl; 3H); 4,66 (sl; 1H); 4,92 (sl; 1H); 5,35 (s; 2H); 7,80 (d; *J*= 8Hz; 2H); 7,86 (s; 2H); 8,32 (m; 4H); 8,39 (d; *J*= 8,4 Hz; 2H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

38,56 + 43,78 (CH₂); 40,66 + 45,93 (CH₂); 44,29 (CH₂); 47,51 (CH₂); 116,54 (C); 123,82 (2CH); 123,98 (2CH); 125,46 (CH); 126,29 (CH); 128,45 (2CH); 129,75 (2CH); 135,01 (C); 138,40 (C); 141,35 (C); 142,75 (C); 148,11 (C-NO₂); 150,52 (C-NO₂); 165,38 (C=O); 167,98 (C=O); 169,73 (C=O); 191,31 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

1.672; 1.641; 1.612; 1.600; 1.519; 1.377; 1.342; 852

MS (ESI), *m/z* (%):

563,2 (M+1)

4.4.12.5. Síntese da (Z)-5-((7-(4-fluorobenzil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78e**

Sólido marrom claro

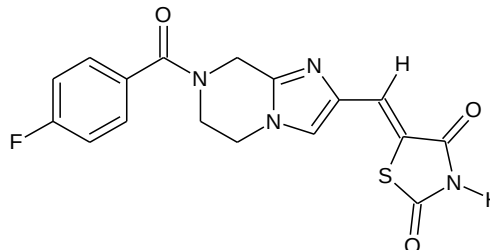
C₁₇H₁₃FN₄O₃S

MM: 372,37 g/mol

Rf: 0,44 (Acetato de etila 100%)

Pf: 242,7 °C

Rendimento: 72%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71c** (0,078 g; 0,2854 mmol), tolueno (7mL), tiazolidina-2,4-diona **53** (0,034 g; 0,2283 mmol), ácido acético (0,013 mL; 0,2283 mmol) e piperidina (0,022 mL; 0,2283 mmol). A purificação foi feita por lavagens do sólido com etanol e metanol. Foram obtidos 0,059 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **78e**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,85 (sl; 2H); 4,13 (s; 2H); 4,77 (s; 2H); 7,32 (ft; J' = J'' = 9,2 Hz; 2H); 7,58 (s; 3H); 7,73 (s; 1H); 11,92 (sl; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (CH₂); 40,91 + 45,64 (CH₂); 44,80 (CH₂); 115,51 (d; J² = 22 Hz; 2CH); 120,19 (C); 123,06 (CH); 125,04 (CH); 129,73 (2CH); 131,39 (C); 135,25 (C); 142,35 (C); 162,84 (d; J¹ = 246 Hz; C-F); 168,40 (C=O); 168,79 (C=O); 171,12 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

2.922; 1.722; 1.687; 1.602; 1.427; 1.301; 1.138; 842

MS (ESI), m/z (%):

373,2 (M+1); 371,3 (M-1)

4.4.12.6. Síntese da (Z)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78f**

Sólido bege

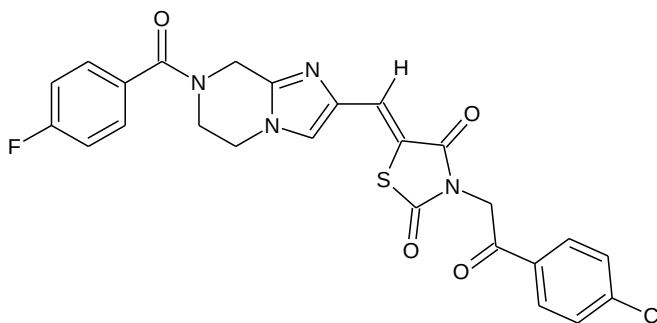
C₂₅H₁₈ClFN₄O₄S

MM: 524,95 g/mol

Rf: 0,45 (Ciclohexano/AcOEt – 1:9)

Pf: 252,9 °C (degradou)

Rendimento: 39%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71c** (0,065 g; 0,2378 mmol), tolueno (6 mL), 3-[2-(4-clorofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona **55a** (0,035 g; 0,2854 mmol), ácido acético (0,011 mL; 0,1902 mmol) e piperidina (0,015 mL; 0,1902 mmol). A purificação foi feita por lavagens do sólido com etanol e metanol. Foram obtidos 0,049 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **78f**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,85 (sl; 2H); 4,16 (s; 2H); 4,18 (sl; 2H); 5,24 (s; 2H); 7,33 (ft; *J'*= *J''*= 8,8 Hz; 2H); 7,60 (dd; *J'*= 5,6 Hz; *J''*= 7,2 Hz; 2H); 7,67 (d; *J*= 8,4 Hz; 2H); 7,83 (s; 1H); 7,84 (s; 1H); 8,08 (d; *J*= 8 Hz; 2H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (CH₂); 44,16 (CH₂); 45,54 (CH₂); 47,16 (CH₂); 115,52 (d; *J*²= 22hz; 2CH); 116,57 (C); 125,35 (CH); 126,22 (CH); 129,10 (2CH); 129,77 (2CH); 130,12 (2CH); 131,37 (C); 132,55 (C); 135,00 (C); 139,26 (C-Cl); 142,74 (C); 162,79 (d; *J*¹= 235 Hz; C-F); 165,44 (C=O); 168,81 (C=O); 169,76 (C=O); 190,78 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

2.966; 1.726; 1.693; 1.668; 1.649; 1.612; 1.408; 1.220; 1.068; 921; 852

MS (ESI), *m/z* (%):

525,2 (M+1)

4.4.12.7. Síntese da (Z)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78g**

Sólido bege

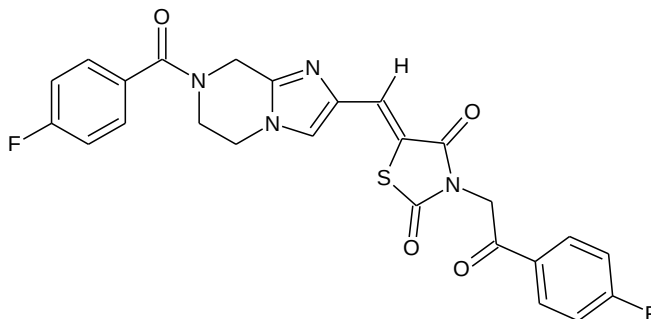
C₂₅H₁₈F₂N₄O₄S

MM: 508,49 g/mol

Rf: 0,45 (Ciclohexano/AcOEt – 1:9)

Pf: 237,4 °C

Rendimento: 25%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71c** (0,065 g; 0,2378 mmol), tolueno (6 mL), 3-[2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona **55c** (0,060 g; 0,2378 mmol), ácido acético (0,011 mL; 0,1902 mmol) e piperidina (0,015 mL; 0,1902 mmol). A purificação foi feita por lavagens do sólido com etanol e metanol. Foram obtidos 0,03 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **78g**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,85 (sl; 2H); 4,17 (sl; 2H); 4,81 (sl; 2H); 5,25 (s; 2H); 7,33 (ft; J' = J'' = 12 Hz; 2H); 7,44 (ft; J' = J'' = 8 Hz; 2H); 7,60 (dd; J' = 4 Hz; J'' = 8 Hz; 2H); 7,84 (sl; 1H); 7,85 (sl; 1H); 8,17 (dd; J' = 8 Hz; J'' = 8 Hz; 2H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (2CH₂); 44,34 (CH₂); 47,13 (CH₂); 115,53 (d; J² = 21 Hz; 2CH); 116,09 (d; J² = 21 Hz; 2CH); 116,60 (C); 125,33 (CH); 126,21 (CH); 129,8 (d; J³ = 8 Hz; 2CH); 130,65 (d; J³ = 2 Hz; 2CH); 131,31 (C); 131,41 (C); 135,01 (C); 162,86 (d; J¹ = 246 Hz; C-F); 165,6 (d; J¹ = 251 Hz; C-F); 166,48 (C=O); 168,83 (C=O); 169,79 (C=O); 190,24 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

1.724; 1.668; 1.649; 1.610; 1.406; 1.230; 1.159; 1.095; 854; 827

MS (ESI), m/z (%):

509,2 (M+1)

4.4.12.8. Síntese da (Z)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78h**

Sólido marrom

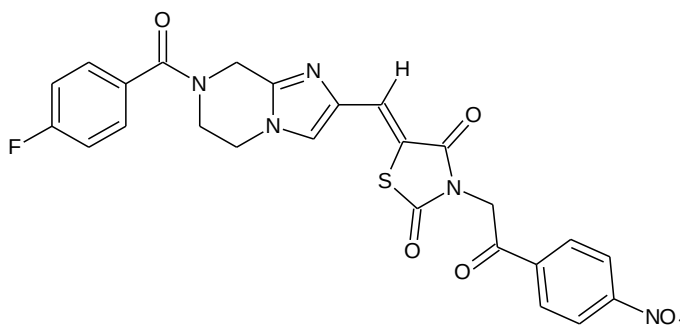
C₂₅H₁₈FN₅O₆S

MM: 535,5 g/mol

Rf: 0,42 (Ciclohexano/AcOEt – 1:9)

Pf: 144,7 °C

Rendimento: 36%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71c** (0,07 g; 0,2561 mmol), tolueno (6,4 mL), 3-[2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona **55b** (0,072 g; 0,2561 mmol), ácido acético (0,012 mL; 0,204 mmol) e piperidina (0,016 mL; 0,204 mmol). A purificação foi feita por lavagens do sólido com etanol. Foram obtidos 0,049 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **78h**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,54 (sl; 2H); 4,17 (sl; 2H); 4,81 (sl; 2H); 5,35 (s; 2H); 7,34 (sl; 2H); 7,61 (sl; 2H); 7,85 (sl; 2H); 8,39 (sl; 2H); 8,32 (sl; 2H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (2CH₂); 44,20 (CH₂); 47,52 (CH₂); 115,53 (d; *J*²= 21 Hz; 2CH); 116,50 (C); 123,98 (2CH); 125,48 (CH); 126,29 (CH); 129,75 (4CH); 131,39 (2CH); 138,40 (2CH); 152,80 (C); 150,52 (C-NO₂); 162,86 (d; *J*¹= 245 Hz; C-F); 166,39 (C=O); 168,86 (C=O); 169,74 (C=O); 191,31 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

1.732; 1.678; 1.620; 1.604; 1.517; 1.415; 1.319; 1.097; 846

MS (ESI), *m/z* (%):

536,2 (M+1)

4.4.12.9. (Z)-5-((7-(4-metoxibenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78i**

Sólido bege escuro

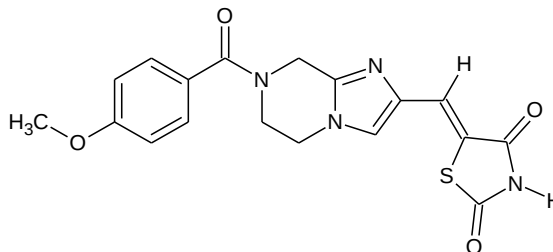
C₁₈H₁₆N₄O₄S

MM: 384,4 g/mol

Rf: 0,37 (AcOEt 100%)

Pf: 288,8 °C

Rendimento: 59%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-metóxi benzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71e** (0,068 g; 0,2383 mmol), tolueno (6,0 mL), tiazolidina-2,4-diona **53** (0,028 g; 0,2383 mmol), ácido acético (0,01 mL; 0,1906 mmol) e piperidina (0,018 mL; 0,1906 mmol). A purificação foi feita por lavagens do sólido com etanol e metanol. Foram obtidos 0,054 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **78i**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,81 (s; 3H); 3,91 (sl; 2H); 4,13 (t; *J*= 4,8 Hz; 2H); 4,76 (s; 2H); 7,02 (d; *J*= 8,8 Hz; 2H); 7,78 (d; *J*= 8,8 Hz; 2H); 7,59 (s; 1H); 7,73 (s; 1H); 12,06 (sl; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (2CH₂); 44,06 (CH₂); 55,25 (CH₃); 113,78 (2CH); 120,01 (C); 123,17 (CH); 125,11 (CH); 126,81 (C); 129,23 (2CH); 135,20 (C); 142,52 (C); 160,63 (C); 168,21 (C=O); 169,62 (C=O); 171,04 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

2.810; 1.720; 1.689; 1.643; 1.598; 1.425; 1.246; 1.022; 835

MS (ESI), *m/z* (%):

385,1 (M+1); 383,2 (M-1)

4.4.12.10. (Z)-5-((7-(4-nitrobenzoyl)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78j**

Sólido amarelo escuro

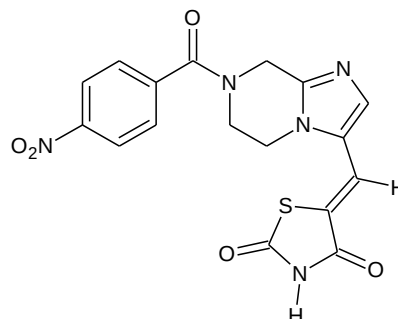
C₁₇H₁₃N₅O₅S

MM: 399,39 g/mol

Rf: 0,33 (AcOEt/ MeOH – 98:2)

Pf: 272,0 °C

Rendimento: 58%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoyl)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldeído **71b** (0,085 g; 0,2830 mmol), tolueno (7 mL), tiazolidina-2,4-diona **53** (0,033 g; 0,2830 mmol), ácido acético (0,012 mL; 0,2264 mmol) e piperidina (0,020 mL; 0,2264 mmol). A purificação foi feita por lavagens do sólido com etanol e metanol. Foram obtidos 0,065 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 78j

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,76 (s; 1H); 4,17 (s; 3H); 4,63 (sl; 1H); 4,89 (s; 1H); 7,33 (s; 1H); 7,47 (s; 1H); 7,79 (s; 2H); 8,32 (d; *J* = 8 Hz; 2H); 12,41 (sl; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

38,94 + 43,75 (CH₂); 41,19 + 45,92 (CH₂); 41,98 (CH₂); 116,00 (C); 121,17 (CH); 123,80 (2CH); 127,02 (C); 128,45 (2CH); 132,41 (CH); 141,05 (C); 144,20 (C); 148,12 (C-NO₂); 167,54 (C=O); 167,91 (C=O); 167,72 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

1.735; 1.396; 1.631; 1.620; 1.519; 1.344; 1.284; 852

MS (ESI), *m/z* (%):

400,1 (M+1); 398,3 (M-1)

4.4.12.11. Síntese da (Z)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78k**

Sólido bege

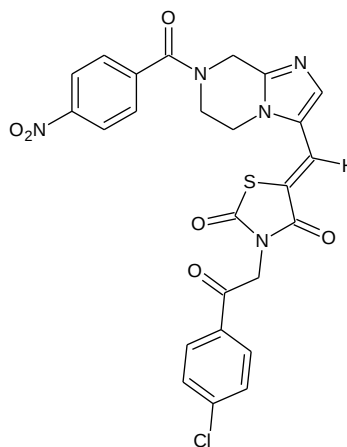
C₂₅H₁₈ClN₅O₆S

MM: 551,95 g/mol

Rf: 0,43 (AcOEt/MeOH – 95:5)

Pf: 273,9 °C

Rendimento: 67%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldeído **71b** (0,07 g; 0,2331 mmol), tolueno (5,8 mL), 3-[2-(4-clorofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona **55a** (0,063 g; 0,2331 mmol), ácido acético (0,010 mL; 0,1864 mmol) e piperidina (0,017 mL; 0,1864 mmol). A purificação foi feita por lavagens do sólido com etanol e metanol. Foram obtidos 0,086 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 78k

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,77 (sl; 1H); 4,15 (sl; 1H); 4,23 (s; 2H); 4,67 (sl; 1H); 7,93 (s; 1H); 5,31 (s; 2H); 7,68 (d; *J* = 8,4 Hz; 2H); 7,79 (sl; 3H); 8,09 (d; *J* = 8 Hz; 2H); 8,32 (d; *J* = 8 Hz; 2H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

38,16 + 43,52 (CH₂); 41,16 + 45,99 (CH₂); 42,21 (CH₂); 47,85 (CH₂); 117,00 (C); 118,29 (CH); 123,81 (2CH); 126,77 (C); 128,46 (2CH); 129,13 (2CH); 130,19 (2CH); 132,44 (C); 133,52 (CH); 139,36 (C-Cl); 141,21 (C); 145,04 (C); 148,13 (C-NO₂); 164,69 (C=O); 166,25 (C=O); 167,82 (C); 190,58 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

1.732; 1.681; 1.647; 1.604; 1.525; 1.402; 1.352; 810; 717

MS (ESI), *m/z* (%):

552,2 (M+1); 550,3 (M-1)

4.4.12.12. Síntese da (Z)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78l**

Sólido bege

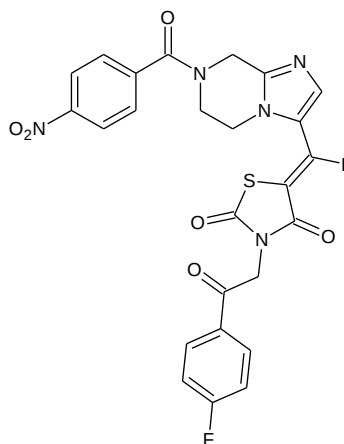
C₂₅H₁₈FN₅O₆S

MM: 535,5 g/mol

R_f: 0,47 (AcOEt/MeOH – 98:2)

Pf: 254,3 °C

Rendimento: 44%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldeído **71b** (0,07 g; 0,2331 mmol), tolueno (6,0 mL), 3-[2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona **55c** (0,06 g; 0,2331 mmol), ácido acético (0,01 mL; 0,1864 mmol) e piperidina (0,017 mL; 0,1864 mmol). A purificação foi feita por lavagens do sólido com etanol e metanol. Foram obtidos 0,063 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 78l

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,78 (sl; 1H); 4,13 (sl; 1H); 4,23 (sl; 2H); 4,67 (sl; 1H); 7,93 (sl; 1H); 5,31 (s; 2H); 7,44 (ft; *J'* = *J''* = 8 Hz; 2H); 7,50 (sl; 1H); 7,71 (sl; 1H); 7,79 (dl; *J* = 4 Hz; 2H); 8,18 (dd; *J'* = 4 Hz; *J''* = 8 Hz; 2H); 8,33 (d; *J* = 8 Hz; 2H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

39,81 + 43,74 (CH₂); 41,48 + 46,10 (CH₂); 42,29 (CH₂); 47,82 (CH₂); 116,13 (d; *J*² = 22 Hz; 2CH); 117,04 (C); 118,77 (CH); 123,82 (2CH); 126,79 (C); 128,46 (2CH); 130,55 (C); 131,45 (d; *J*³ = 10 Hz; 2CH); 133,51 (C); 141,27 (C); 148,14 (C-NO₂); 164,73 (2C=O); 165,66 (d; *J*¹ = 252 Hz; C-F); 166,28 (C=O); 190,04 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

1.730; 1.685; 1.643; 1.600; 1.521; 1.446; 1.355; 1.278; 12238; 1.136; 846

MS (ESI), *m/z* (%):

536,2 (M+1); 534,2 (M-1)

4.4.12.13. Síntese da (Z)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78m**

Sólido marrom

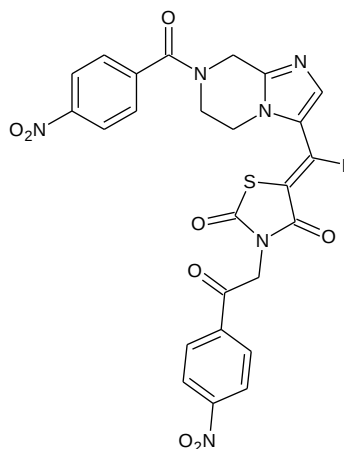
C₂₅H₁₈N₆O₈S

MM: 562,51 g/mol

Rf: 0,39 (AcOEt 100%)

PF: 235,2 °C

Rendimento: 31%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-nitrobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldeído **71b** (0,08 g; 0,2664 mmol), tolueno (6,6 mL), 3-[2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona **55b** (0,075 g; 0,2664 mmol), ácido acético (0,011 mL; 0,2131 mmol) e piperidina (0,019 mL; 0,2131 mmol). A purificação foi feita por cromatografia em coluna de sílica gel com um gradiente dos solventes diclorometano e metanol (1:0 e 95:5). Foram obtidos 0,087 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **78m**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,78 (sl; 1H); 4,16 (sl; 1H); 4,24 (sl; 2H); 4,68 (sl; 1H); 4,93 (sl; 1H); 5,42 (s; 2H); 7,51 (sl; 1H); 7,72 (sl; 1H); 7,80 (d; *J* = 8 Hz; 2H); 8,32 (sl; 2H); 8,33 (sl; 2H); 8,40 (d; *J* = 8 Hz; 2H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

38,49 + 43,42 (CH₂); 42,03 (CH₂); 41,15 + 45,93 (CH₂); 48,17 (CH₂); 116,91 (C); 118,89 (CH); 123,80 (2CH); 123,98 (2CH); 126,76 (C); 128,47 (2CH); 129,81 (2CH); 133,57 (CH); 138,28 (C); 141,17 (C); 145,09 (C); 148,13 (C-NO₂); 150,56 (C-NO₂); 164,62 (C=O); 166,21 (C=O); 167,76 (C=O); 191,09 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

1.738; 1.681; 1.639; 1.608; 1.523; 1.404; 1.344; 854

MS (ESI), *m/z* (%):

563,3 (M+1)

4.4.12.14. Síntese da (Z)-5-((7-(4-fluorobenzil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78n**

Sólido amarelo

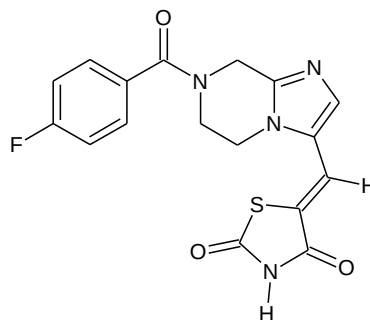
C₁₇H₁₃FN₄O₃S

MM: 372,37 g/mol

R_f: 0,29 (AcOEt/MeOH – 98:2)

Pf: 278,8 °C (degradou)

Rendimento: 60%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldeído **71d** (0,078 g; 0,2854 mmol), tolueno (7 mL), tiazolidina-2,4-diona **53** (0,035 g; 0,2854 mmol), ácido acético (0,013 mL; 0,2283 mmol) e piperidina (0,022 mL; 0,2283 mmol). A purificação foi feita por meio de coluna cromatográfica clássica em sílica gel, utilizando um gradiente de polaridade crescente (ciclohexano/ acetato de etila 3:7; 100% acetato de etila e acetato de etila/metanol 95:5). Foram obtidos 0,064 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **78n**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,85 (sl; 2H); 4,19 (t; J = 4,8 Hz; 2H); 4,80 (sl; 2H); 7,32 (ft; J' = J'' = 8,8 Hz; 2H); 7,34 (s; 1H); 7,52 (s; 1H); 7,59 (dd; J' = 5,6 Hz; J'' = 8,4 Hz; 2H); 12,51 (sl; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (2CH₂); 41,89 (CH₂); 115,92 (d; J² = 22 Hz; 2CH); 116,71 (CH); 120,10 (C); 126,86 (C); 129,76 (d; J³ = 8 Hz; 2CH); 131,30 (C); 131,32 (C); 132,67 (CH); 162,86 (d; J¹ = 246 Hz; C-F); 166,88 (C=O); 167,06 (C=O); 168,70 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

2.924; 1.724; 1.678; 1.627; 1.598; 1.421; 1.292; 1.141; 848

MS (ESI), m/z (%):

373,1 (M+1); 371,3 (M-1)

4.4.12.15. Síntese da (Z)-3-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78o**

Sólido bege

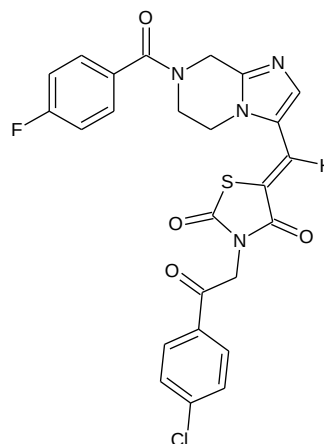
C₂₅H₁₈ClFN₄O₄S

MM: 524,95 g/mol

Rf: 0,38 (AcOEt/ MeOH – 98:2)

Pf: 296,4 °C

Rendimento: 44%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldeído **71d** (0,145 g; 0,53 mmol), tolueno (13,2 mL), 3-[2-(4-clorofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona **55a** (0,143 g; 0,53 mmol), ácido acético (0,024 mL; 0,424 mmol) e piperidina (0,04 mL; 0,424 mmol). A purificação foi feita por lavagens do sólido com etanol e recristalização com diclorometano e éter isopropílico. Foram obtidos 0,123 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 78o

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,86 (sl; 2H); 4,23 (sl; 2H); 4,83 (sl; 2H); 5,32 (s; 2H); 7,32 (ft; *J'* = *J''* = 8,4 Hz; 2H); 7,48 (s; 1H); 7,59 (dd; *J'* = 6 Hz; *J''* = 7,2 Hz; 2H); 7,68 (d; *J* = 8,4 Hz; 2H); 7,72 (s; 1H); 8,09 (d; *J* = 8,4 Hz; 2H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (CH₂); 40,13 (CH₂); 44,15 (CH₂); 47,85 (CH₂); 115,54 (d; *J*² = 22 Hz; 2CH); 116,93 (C); 118,83 (CH); 126,76 (C); 129,13 (2CH); 129,73 (2CH); 130,20 (2CH); 131,34 (C); 131,27 (C); 132,45 (C); 133,53 (CH); 139,36 (C-Cl); 161,65 (C=O); 164,69 (C=O); 166,26 (C=O); 168,77 (C-F_{HBM}C); 190,59 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

1.737; 1.687; 1.643; 1.600; 1.442; 1.402; 1.224; 1.091; 846; 808

MS (ESI), *m/z* (%):

525,1 (M+1)

4.4.12.16. Síntese da (Z)-3-(2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78p**

Sólido bege

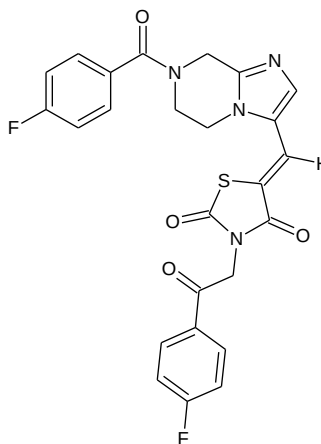
C₂₅H₁₈F₂N₄O₄S

MM: 508,49 g/mol

Rf: 0,38 (AcOEt/MeOH – 98:2)

Pf: 285,3 °C

Rendimento: 50%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldeído **71d** (0,07 g; 0,2561 mmol), tolueno (6,4 mL), 3-[2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona **55c** (0,065 g; 0,2561 mmol), ácido acético (0,011 mL; 0,2048 mmol) e piperidina (0,018 mL; 0,2048 mmol). A purificação foi feita por lavagens do sólido com etanol e metanol. Foram obtidos 0,065 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 78p

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,02 (sl; 1H); 4,10 (sl; 1H); 4,24 (s; 2H); 4,83 (sl; 2H); 5,31 (s; 2H); 7,33 (sl; 2H); 7,44 (sl; 4H); 7,60 (sl; 1H); 7,72 (sl; 1H); 8,18 (s; 2H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

41,91 + 43,81 (CH₂); 41,94 (CH₂); 42,08 (CH₂); 47,80 (CH₂); 115,51 (d; *J*²= 25 Hz; 2CH); 116,08 (d; *J*²= 21 Hz; 2CH); 116,97 (C); 118,77 (CH); 126,75 (C); 129,77 (CH); 130,53 (C); 131,38 (2CH); 131,69 (C); 133,53 (2CH); 164,70 (C=O); 166,26 (C=O); 167,29 (2 C-F_HMBC); 168,73 (C=O) 190,01 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

1.732; 1.680; 1.641; 1.598; 1.444; 1.276; 1.228; 1.157; 1.136; 844; 815

MS (ESI), *m/z* (%):

509,3 (M+1); 507,3 (M-1)

4.4.12.17. Síntese da (Z)-3-(2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil)-5-((7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78q**

Sólido amarelo

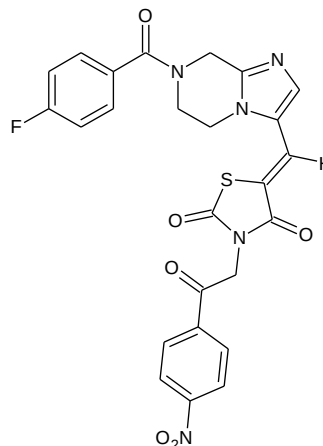
$C_{25}H_{18}FN_5O_6S$

MM: 535,5 g/mol

Rf: 0,38 (AcOEt/MeOH – 98:2)

Pf: 263,5 °C

Rendimento: 42%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-fluorobenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldeído **71d** (0,145 g; 0,53 mmol), tolueno (13,2 mL), 3-[2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil]-1,3-tiazolidina-2,4-diona **55b** (0,149 g; 0,53 mmol), ácido acético (0,024 mL; 0,424 mmol) e piperidina (0,04 mL; 0,424 mmol). A purificação foi feita por lavagens do sólido com etanol e recristalização com diclorometano e éter isopropílico. Foram obtidos 0,119 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE 78q

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

3,86 (sl; 2H); 4,24 (t; J = 4,8 Hz; 2H); 4,83 (sl; 2H); 5,41 (s; 2H); 7,32 (ft; J'' = J''' = 8,8 Hz; 2H); 7,48 (s; 1H); 7,59 (dd; J'' = 5,6 Hz; J''' = 8,4 Hz; 2H); 7,73 (s; 1H); 8,32 (d; J = 8,8 Hz; 2H); 8,40 (d; J = 8,8 Hz; 2H)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ ppm:

? (CH₂); 42,02 (CH₂); 43,80 (CH₂); 48,17 (CH₂); 115,52 (d; J^2 = 21 Hz; 2CH); 116,82 (C); 118,92 (CH); 123,98 (2CH); 126,74 (C); 129,81 (4CH); 131,30 (C); 133,58 (CH); 138,28 (C); 145,05 (C); 150,56 (C); 162,86 (d; J^1 = 247 Hz; C-F); 164,62 (C=O); 166,21 (C=O); 168,74 (C=O); 191,09 (C=O)

IV (ATR), cm^{-1} :

3.406; 1.720; 1.681; 1.641; 1.604; 1.529; 1.413; 1.344; 1.226; 1.101; 840

MS (ESI), m/z (%):

536,1 (M+1); 534,1 (M-1)

4.4.12.18. (Z)-5-((7-(4-metoxibenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona **78r**

Sólido bege

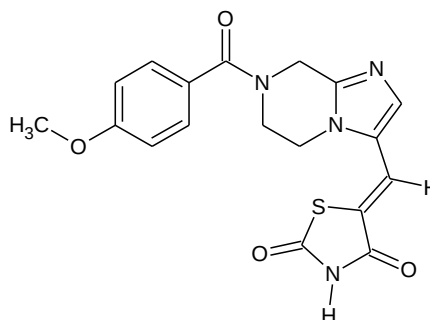
C₁₈H₁₆N₄O₄S

MM: 384,4 g/mol

Rf: 0,32 (AcOEt 100%)

Pf: 175,8 °C

Rendimento: 62%



O método de síntese foi similar ao utilizado no item 4.4.12.1.

Foram utilizados 7-(4-metoxibenzoil)-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldeído **71f** (0,1 g; 0,3505 mmol), tolueno (8,7 mL), tiazolidina-2,4-diona (0,041 g; 0,3505 mmol), ácido acético (0,015 mL; 0,2804 mmol) e piperidina (0,025 mL; 0,2804 mmol). A purificação foi feita por lavagens do sólido com etanol e metanol. Foram obtidos 0,084 g do produto puro.

DADOS ESPECTOMÉTRICOS DE **78r**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

3,82 (s; 3H); 3,94 (sl; 2H); 4,17 (sl; 2H); 4,79 (s; 2H); 7,03 (sl; 2H); 7,27 (sl; 1H); 7,48 (sl; 3H); 8,46 (s; 1H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm:

? (2CH₂); 41,85 (CH₂); 55,27 (CH₃); 113,78 (2CH); 114,99 (CH); 122,68 (C); 126,78 (C); 127,23 (C); 129,24 (2CH); 132,01 (CH); 144,23 (C); 160,66 (C); 168,39 (C=O); 169,55 (C=O); 169,66 (C=O)

IV (ATR), cm⁻¹:

1.735; 1.691; 1.604; 1.427; 1.247; 1.163; 1.024; 840

MS (ESI), *m/z* (%):

385,1 (M+1); 383,2 (M-1)

5. CAPÍTULO 3 – ATIVIDADE BIOLÓGICA

5.1. OBJETIVOS

5.1.1. Objetivo Geral

Avaliar a atividade antiparasitária, sendo atividade antichagas e antileishmania dos novos derivados sintetizados e citotoxicidade dos compostos sintetizados.

5.1.2. Objetivos Específicos

- a. Avaliar a atividade anti-Leishmania dos compostos sintetizados 56a-g, 57a-u, 75a-x, 77a,b e 78a-r frente às espécies *L. amazonensis* e *L. infantum*, em todas as formas evolutivas dos parasitas.
- b. Avaliar a atividade anti-Leishmania dos compostos sintetizados 56a-g, 57a-u, 75a-x, 77a,b e 78a-r frente à espécie *L. major*, em todas as formas evolutivas do parasita.
- c. Avaliar a atividade antichagásica dos compostos sintetizados 56a-g, 57a-u, 75a-x, 77a,b e 78a-r frente a todas as formas evolutivas do *T. cruzi*.
- d. Avaliar a citotoxicidade dos compostos sintetizados 56a-g, 57a-u, 75a-x, 77a,b e 78a-r frente à macrófagos e frente às células HeLa.

5.2. METODOLOGIA

5.2.1. Atividade anti-*Leishmania in vitro* contra as espécies *L. amazonensis* e *L. infantum*

5.2.1.1. Cultura de promastigotas de *L. amazonensis* e *L. infantum*

As formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa WHOM/00 LTB 0016) e *L. infantum* (cepa MHOM/MA/67/ITMAP-263) foram mantidas a 26° C em meio Schneider's (Sigma) suplementado com 10% de soro fetal bovino - PBS (meio completo). Os parasitas na fase exponencial de crescimento foram utilizados em todos os experimentos.

5.2.1.2. Atividade anti *Leishmania* contra as formas evolutivas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. infantum*

Para o ensaio de atividade leishmanicida, os parasitas foram contados e diluídos em meio Schneider's (Sigma) completo a 1×10^6 células/mL. Os parasitas foram incubados a 26°C na presença de diferentes concentrações dos compostos (1,5 a 200 µg/mL) por 72 horas. Os parasitas incubados apenas com meio de cultura e com miltefosina foram utilizados como controle negativo e positivo, respectivamente. O crescimento celular foi avaliado e a IC₅₀/72h foi determinada por análise de regressão. Cada ensaio foi realizado em triplicata.

5.2.1.3. Atividade anti *Leishmania* contra as formas evolutivas amastigotas de *L. amazonensis* e *L. infantum*

Para esta avaliação, macrófagos RAW 264.7 foram distribuídos em placas de 24 poços (3×10^5 células/mL) contendo uma lâminula redonda estéril. Os macrófagos foram incubados para aderência por 2 horas, à 37°C e atmosfera com 5% de CO₂. Após essa incubação inicial foram acrescentadas promastigotas infectivas de *L. amazonensis* ou *L. infantum* na proporção de 8 parasitas/macrófago, por um período de 6 horas, a 37°C e 5% de CO₂. Os parasitas não internalizados foram removidos por lavagem e a cultura foi incubada novamente na presença de diferentes concentrações dos compostos (6 a 200 µg/mL) por 24 horas, a 37°C e 5% de CO₂. A miltefosina foi utilizada como controle positivo, nas mesmas concentrações dos compostos. Após a

incubação, as lamínulas contendo a cultura foram lavadas com PBS, coletadas e coradas com kit de coloração Panótico Rápido. A porcentagem de macrófagos infectados, bem como o número de amastigotas/macrófagos foi determinada pela contagem de 100 macrófagos, em duplicata. A atividade leishmanicida dos compostos foi verificada pela diminuição no número de macrófagos infectados e de amastigotas intracelulares nas culturas tratadas em comparação com a cultura controle sem tratamento. Os valores de IC₅₀ foram calculados por análise de regressão utilizando o software GraphPad Prism.

5.2.2. Atividade anti-Leishmania *in vitro* contra a espécie *L. major*

Os compostos foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) para obter as soluções estoque de concentração 10 mM. As diluições de cada composto foram realizadas em média de acordo com a linhagem celular de cada cultura até concentração máxima final de 1% de DMSO.

5.2.2.1. Cultura de promastigotas de *L. major*

As cepas de promastigotas de *L. major* (MHOM/IL/81/BNI) foram mantidas em meio de cultura Schneider's (Sigma chemical Co. St Louis, Mo) com 13% de soro fetal bovino inativado pelo calor (PBS, SigmaeAldrich), penicilina (100 UI/mL) e estreptomicina (100 mg/mL) à 26 °C por 7 dias.

5.2.2.2. Atividade anti Leishmania *in vitro* contra a forma evolutiva promastigota de *L. major*

O teste de susceptibilidade promastigota foi realizado pelo micrométodo espectrofluorimétrico descrito previamente (PAPE; PAGNIEZ; ABDALA, 2002). 100 µL de uma suspensão de 10⁶ promastigotas/mL foram colocadas em uma placa de 96 poços. As culturas foram expostas às drogas durante 96 horas a 26°C. A medição foi feita 4 horas após a adição de 10 µL de uma solução de resazurida 700 µM. Então, a emissão de fluorescência foi medida a 590 nm com uma excitação de 550 nm.

5.2.2.3. Atividade anti Leishmania *in vitro* contra o estágio amastigota de *L. major*

A citotoxicidade contra o estágio amastigota intracelular do parasito foi determinada após infecção peritoneal de macrófagos em camundongos Balb/c (CE Janvier, Le Genest, França). Para infecção, foram utilizados 100 μL de uma suspensão peritoneal de macrófagos que foram colocados em uma placa de 24 poços (Nunc) de lâmina de vidro (10 mm de diâmetro) a $1,5 \times 10^5$ células/mL em RPMI 1640 com 15% de SFB a 37°C e 5% de CO_2 . Após 24 horas de incubação para permitir a ligação, os macrófagos foram infectados com 100 μL de uma suspensão promastigota de fase estacionária ($1,5 \times 10^5$ promastigotas/mL em meio RPMI 1640 mais 15% de PBS) e depois incubada por um período de 24 horas a 37°C e 5% de CO_2 para infecção. A cultura de macrófagos foi lavada e exposta aos compostos em uma concentração de 10 μM . O meio com os compostos foi substituído após 48 horas. Após 2 dias, as culturas foram fixadas com metanol, coradas com May-Grunwalde Giemsa e microscopicamente examinados. O número médio de amastigotas por macrófago foi determinado pela contagem do número de amastigotas em 100 macrófagos escolhidos aleatoriamente e em cada duplicata. Os percentuais inibitórios, após o tratamento com 10 μM dos compostos, foram calculados usando os valores do número de amastigotas por macrófago. A porcentagem de macrófagos infectados também foi calculada (PAGNIEZ et al., 2006).

5.2.3. Atividade antichagásica *in vitro*.

5.2.3.1. Cultura de *Trypanossoma cruzi* - forma epimastigota

As formas epimastigotas (cepa DM28c) foram mantidas em meio LIT suplementado com 20% de PBS, a 27 °C.

5.2.3.2. Atividade antichagásica contra a forma evolutiva epimastigota

Para determinar o efeito antiproliferativo para formas epimastigotas da cepa DM28c (10^6 parasitas/mL) foram mantidas em meio LIT + 1% de antibiótico (Gibco Pen Strep - Penicilina 10.000 U/mL + Estreptomicina 10.000 $\mu\text{g/mL}$) + 20% de PBS, foram semeadas em placas de 96 poços à 27°C, juntamente com diferentes concentrações dos compostos (0,19; 1,56; 6,25; 25; 100 $\mu\text{g/mL}$) por 96 horas. Cada

composto foi testado em duplicata. O controle negativo foi em poços sem tratamento e a droga de referência utilizada como controle positivo foi o benznidazol. A viabilidade parasitária foi determinada por contagem direta em câmara de Neubauer e, a partir desses valores, a IC₅₀ (concentração que inibe o crescimento de 50% de parasitas) foi obtida por meio de uma regressão linear simples utilizando o “software” Prisma 5.0 Graphpad.

5.2.3.3. Cultura de *Trypanossoma cruzi* - forma tripomastigota

As formas tripomastigotas (cepa Y) foram obtidas a partir da infecção *in vitro* (1x10⁷ parasitas) da linhagem de células Vero, após estas obterem confluência em cultura.

5.2.3.4. Atividade antichagásica contra a forma evolutiva tripomastigota

Para determinar o efeito antiproliferativo sob as formas tripomastigotas da cepa Y 4x10⁶ parasitas/mL foram mantidas em meio RPMI com 1% de antibiótico e 5% de PBS, foram semeadas em placas de 96 poços à 37°C, juntamente com diferentes concentrações dos compostos (0,19; 1,56; 6,25; 25; 100 µg/ml) por 24 horas sob atmosfera de 5% de CO₂. Cada composto foi testado em duplicata. Como controle negativo da reação, poços sem tratamento foram utilizadas e a droga de referência utilizada como controle positivo foi o benznidazol. A viabilidade parasitária foi determinada por contagem direta em câmara de Neubauer e, a partir desses valores, obteve-se a IC₅₀ por meio de uma regressão linear simples utilizando o “software” Prisma 5.0 Graphpad.

5.2.3.5. Cultura de *T. cruzi* para o teste tripanocida contra a forma amastigota

Para o teste *in vitro* de compostos tripanocidas foi utilizada a cepa Tulahuen de *T. cruzi* expressando o gene da β-galactosidase de *Escherichia coli*. As formas infectantes tripomastigotas são obtidas através de cultura em monocamadas de fibroblastos L929 de camundongo em meio RPMI-1640 (pH 7,2-7,4), sem vermelho de fenol (Gibco BRL), contendo 10% de soro fetal bovino e 2 mM de glutamina.

5.2.3.6. Atividade antichagásica contra a forma evolutiva amastigota

Para o bioensaio, 4.000 células L929 em 80 μ L de meio suplementado são adicionados a cada poço de uma placa de microtitulação de 96 poços. Após uma incubação durante a noite, 40.000 tripomastigotas em 20 μ L são adicionados às células e então passam por incubação a 37 °C durante 2 h. O meio contendo parasitas que não penetraram nas células é substituído por 200 μ L de meio fresco e a placa é incubada por 48 horas adicionais para estabelecer a infecção. O meio é então substituído por soluções dos compostos de 10 ou 20 mg/mL em DMSO e a placa é incubada por 96 horas a 37 °C. Após esse período, 50 μ L de clorofenol 500 μ M glicosídeo vermelho em Nonidet P40 a 0,5% é adicionado a cada poço e a placa é incubada por 18 horas a 37 °C, posteriormente a absorvância a 570 nm é medida. Controles com células não infectadas e células infectadas tratadas com benznidazol ou não são executados em paralelo. Os ensaios em triplicata são executados na mesma placa (ROMANHA et al., 2010).

5.2.4. Avaliação da atividade citotóxica em macrófagos

Os macrófagos da linhagem RAW 264.7 foram soltos das garrafas de cultura e foram plaqueados em placas de 96 poços, fundo reto e incubadas por 24 horas, a 37°C e atmosfera com 5% de CO₂, para aderência. Após esse tempo, os compostos foram adicionados nas concentrações de 6 a 200 μ g/mL e incubados novamente por um período de 48 horas. Foram utilizados poços apenas com meio de cultura como controle negativo. Após a incubação foi acrescentado 25 μ L de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-brometo difenil tetrazólio) a 5mg/mL em PBS, seguida de uma nova incubação por 2 horas, a 37°C e ao abrigo da luz. Parte do meio de cultura juntamente com o restante de MTT foi aspirado e 100 μ L de DMSO foi adicionado, por poço, para solubilização dos cristais de formazan resultantes da redução do MTT. Foi realizada a leitura da absorbância a 570 nm no espectrofotômetro THERMO SCIENTIFIC Multiskan FC. A concentração citotóxica para 50% da cultura (CC₅₀) foi determinada por análise de regressão pelo software GraphPad Prism. Cada ensaio foi realizado em triplicata.

5.2.5. Avaliação da atividade citotóxica em células HeLa

As células HeLa foram subcultivadas a cada 4 dias em meio RPMI 1640 suplementado com 10% SFB (Sigma-Aldrich). As células foram colhidas após uma incubação de 5 minutos com solução de tripsina (Sigma-Aldrich). As células HeLa foram semeadas em uma microplaca de 96 poços com 100 μ L de uma suspensão 10^5 /mL em cada poço. Após um período de incubação de 24 horas a 37°C e 5% de CO₂, 100 μ L de dos compostos em várias concentrações foram adicionados em duplicata. Após 96 horas, 10 μ L de solução de resazurina (700 μ M) foram adicionados. Após 3 horas de incubação a 37°C, 5% CO₂, a fluorescência foi medida a 590 nm com uma excitação a 550 nm.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

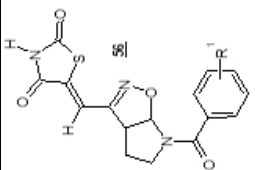
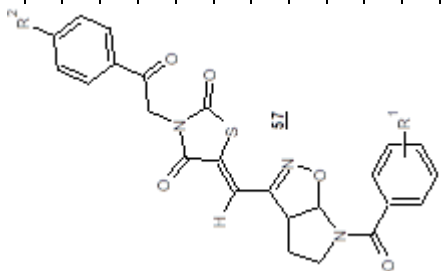
5.3.1. Atividade anti-Leishmania

Os testes de determinação da atividade anti-Leishmania contra as espécies *L. amazonensis* e *L. infantum* foram desenvolvidos no Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Departamento de Imunologia do Instituto Aggeu Magalhães/FIOCRUZ. Em paralelo, os testes para avaliação da atividade anti-leishmania contra a espécie *L. major* foram desenvolvidos no Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale (IICiMed) na Universidade de Nantes – França.

5.3.1.1. Série isoxazolina aza-bicíclica (Séries **56a-g** e **57a-u**)

Os resultados obtidos na determinação da Concentração Inibitória 50% (IC₅₀) da série de compostos híbridos 2-isoxazolina aza-bicíclica/tiazolidina-2,4-diona **56a-g** e **57a-u** frente às espécies *L. amazonensis* e *L. infantum* (formas promastigota e amastigota) estão apresentados na Tabela 10. Alguns resultados promissores foram obtidos quando se trata da forma evolutiva promastigota de ambas as espécies. Resultados estes com um IC₅₀ inferior ao fármaco padrão utilizado, a miltefosina. As moléculas **57c**, **57d**, **57f** e **57i** apresentaram bons resultados de IC₅₀ para as formas promastigota de *L. amazonensis* e *L. infantum*. Estas, possuem átomos de halogênio (Cloro e Flúor) em R¹ e R². Em contrapartida, as moléculas **57a**, **57i** e **57o** demonstraram bons valores de IC₅₀ apenas para a espécie *L. infantum* e, estas moléculas possuem átomo de halogênio apenas em R². É possível que a presença do átomo de halogênio seja necessária para a apresentação de atividade anti-leishmania. O Gráfico 01 apresenta os valores de IC₅₀ das moléculas que apresentaram atividade para melhor visualização dos resultados.

Tabela 10. Resultados da atividade anti-Leishmania contra *L. amazonensis* e *L. infantum* e IC₅₀ dos compostos **56a-g** e **57a-u**.

Estrutura	Composto	R ¹	R ²	<i>L. amazonensis</i>			<i>L. infantum</i>	
				Promastigota IC ₅₀ (uM)	Amastigota IC ₅₀ (uM)	Promastigota IC ₅₀ (uM)	Amastigota IC ₅₀ (uM)	
	56a	4-Cl	H	273,42	>1058,76	281,6	>1058,76	
	56b	4-F	H	>553,49	>553,49	>553,49	>553,49	
	56c	4-OMe	H	>535,64	>1071,29	>535,64	>1071,29	
	56d	4-terc-butil	H	110,62	507,18	160,21	500,92	
	56e	4-CH ₃	H	>559,62	322,06	>559,62	>559,62	
	56f	4-NO ₂	H	>514,99	>514,99	>514,99	48,61	
	56g	3-NO ₂	H	363,84	>514,99	>514,99	>514,99	
	57a	4-Cl	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	16,13	>377,09	9,14	>377,09	
	57b	4-Cl	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	68,27	92,06	22,25	>369,73	
	57c	4-Cl	-CH ₂ CO(4-F)Ph	9,31	>389,16	8,11	35,29	
	57d	4-F	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	7,33	122,19	5,81	>389,16	
	57e	4-F	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	38,16	85,41	74,03	90,77	
	57f	4-F	-CH ₂ CO(4-F)Ph	5,57	>402,03	7,69	84,14	
	57g	4-OMe	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	39,83	>380,98	19,98	>380,98	
	57h	4-OMe	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	186,03	>372,77	117,74	94,42	
	57i	4-OMe	-CH ₂ CO(4-F)Ph	17,98	>392,54	16,76	>392,54	
	57j	4-terc-butil	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	>362,29	180,25	>362,29	>362,2	
	57k	4-terc-butil	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	29,27	68,36	36,2	>710,98	
	57l	4-terc-butil	-CH ₂ CO(4-F)Ph	8,48	222,56	10,13	>373,42	
	57m	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	21,41	230,01	34,08	41,29	
	57n	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	75,94	186,55	27,37	143,09	
	57o	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-F)Ph	19,43	93,43	9,11	221,88	
	57p	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	40,19	208,34	31,83	32,61	
	57q	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	>360,69	535,64	215,23	34,23	
	57r	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	49,26	184,5	25,81	>381,26	
	57s	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	185,42	>369,73	119,96	>369,73	
	57t	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	>362,66	>362,66	>362,66	>362,66	
	57u	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	155,66	>381,33	156,72	>381,33	
Miltefosina				15,82	7,07	18	1,67	

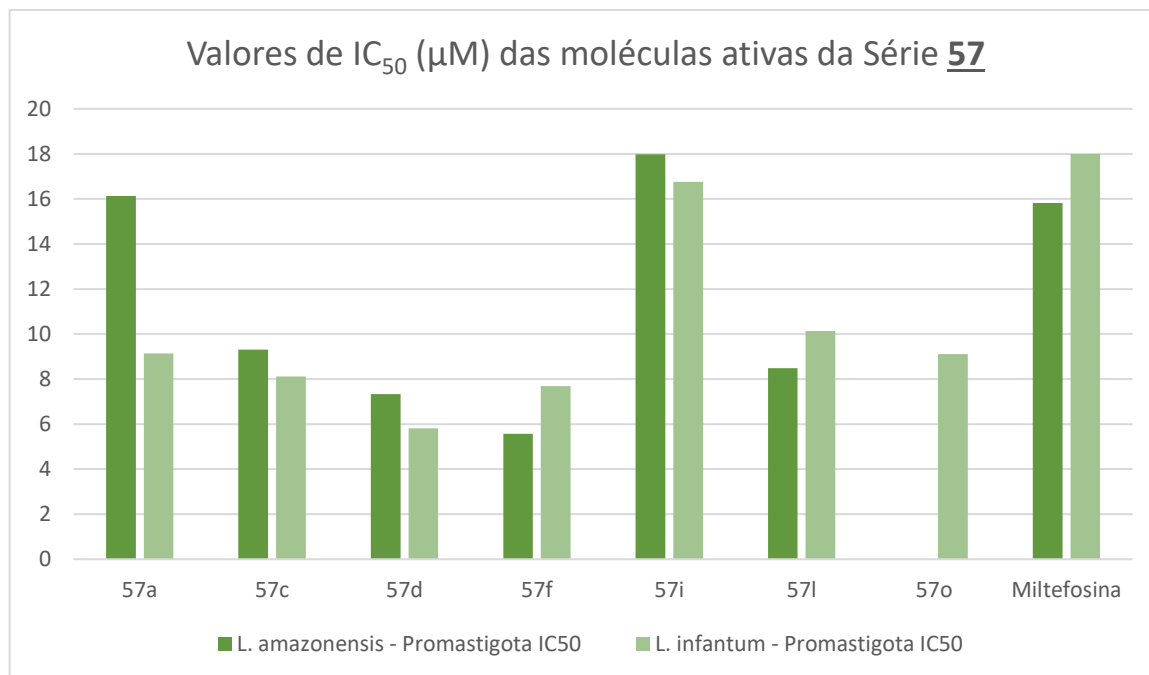


Gráfico 01. Valores de IC₅₀ das moléculas da série **57** que apresentaram atividade anti-leishmania.

As moléculas que não possuem substituição no átomo de nitrogênio da tiazolidina-2,4-diona (Série **56a-g**), não apresentaram atividade anti-leishmania para as espécies relatadas na Tabela 10 em ambas as formas evolutivas testadas. Também não foi verificada atividade antiparasitária superior à do fármaco de referência quanto a forma evolutiva amastigota para todas as moléculas da Série **57a-u**, que possui substituição no átomo de nitrogênio da tiazolidina-2,4-diona.

Das 28 moléculas sintetizadas nesta série, 26 tiveram sua atividade avaliada frente à forma promastigota de *L. major*, como mostram os resultados nas Tabelas 11. É possível verificar que, dentre as moléculas testadas aproximadamente 70% das moléculas foram ativas. Essas apresentaram resultados de IC₅₀ inferior ao fármaco padrão utilizado, a pentamidina. Os valores obtidos não se diferenciam de maneira significativa quando comparados aos radicais (R¹ e R²) presentes, fazendo análise de suas características químicas, como eletronegatividade, volume atômico ou ativadores e desativadores do anel aromático. Diante disso não foi possível determinar a relação estrutural das moléculas testadas, se há um incremento ou não à atividade antileishmania nesta espécie.

A Série **56a-g**, sem substituinte no átomo de nitrogênio da tiazolidina-2,4-diona apresentou IC₅₀ muito superior ao da pentamidina, contrastando com a Série **57a-u**,

que apresenta o referido nitrogênio substituído, que em sua maioria apresentou IC₅₀ menores do que a pentamidina.

As moléculas com melhores resultados contra a *L. major* foram as **57b**, **57d**, **57i** e **57p** com resultados de IC₅₀ 1,39, 1,95, 1,72 e 1,73 µM, respectivamente. Todos os valores podem ser vistos também no Gráfico 02, que mostra todas as moléculas que apresentaram valores de IC₅₀ inferiores à pentamidina (3,56 µM). É importante destacar que as moléculas **57b** e **57p** se apresentam em destaque pela sua atividade frente à forma promastigota de *L. major* mas, não apresentam nenhuma atividade antiparasitária frente às outras espécies de *Leishmania* testadas (*L. amazonensis* e *L. infantum*).

Tabela 11. Resultados da atividade anti-Leishmania contra a forma promastigota de *L. major* dos compostos **56a-g** e **57a-u**.

Comp.	R ¹	R ²	Promast. IC ₅₀ (µM)	Comp.	R ¹	R ²	Promast. IC ₅₀ (µM)
56a	4-Cl	H	74,73±0,00	57h	4-OMe	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	2.79±0.26
56b	4-F	H	>100	57i	4-OMe	-CH ₂ CO(4-F)Ph	2.53±0.54
56c	4-OMe	H	>100	57j	4- <i>terc</i> -butil	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2.85±0.77
56d	4- <i>terc</i> -butil	H	24,18±5,06	57k	4- <i>terc</i> -butil	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	3,21±2,27
56e	4-toluil	H	>100	57l	4- <i>terc</i> -butil	-CH ₂ CO(4-F)Ph	1.72±0.27
56f	4-NO ₂	H	>100	57m	4-toluil	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2.52±0.08
56g	3-NO ₂	H	>100	57n	4-toluil	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	-
57a	4-Cl	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2.07±0.38	57o	4-toluil	-CH ₂ CO(4-F)Ph	-
57b	4-Cl	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	1.39±0.02	57p	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	1.73±0.28
57c	4-Cl	-CH ₂ CO(4-F)Ph	2.17±0.42	57q	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	2.58±0.04
57d	4-F	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	1.95±0.19	57r	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	2.61±0.45
57e	4-F	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	2,7±0,23	57s	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2.22±0.18
57f	4-F	-CH ₂ CO(4-F)Ph	2.18±0.18	57t	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	7.33±3.17
57g	4-OMe	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2.27±0.47	57u	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	2.51±0.20
Pentamidina		3.56±0.46					

-: Não testado.

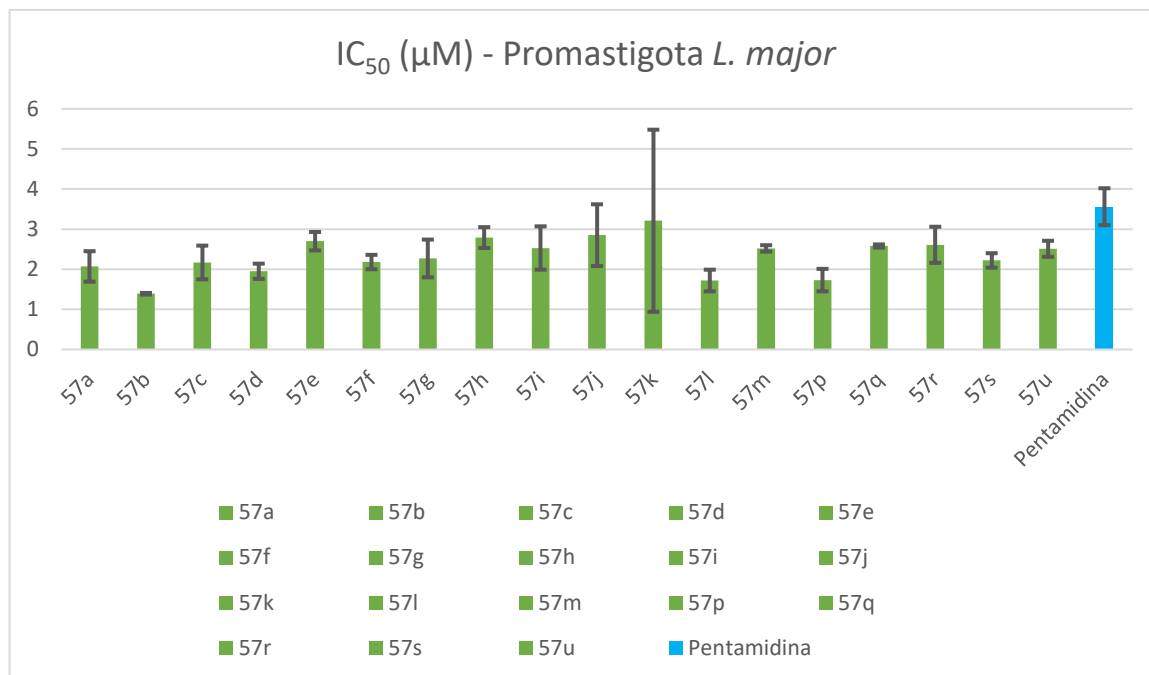


Gráfico 02. Resultado do teste antileishmania contra a forma promastigota de *L. major* das moléculas ativas da Série **57**.

5.3.1.2. Série 5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazina (Moléculas **75a-x**, **77a,b** e **78a-r**)

A série de moléculas híbridas 5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazina/tiossemicarbazona **75a-x**, 5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidinona **77a,b** e 5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidina-2,4-diona **78a-r** foram testadas para as espécies *L. amazonensis*, *L. infantum* e *L. major*, assim como a série descrita anteriormente. Os testes foram realizados seguindo o mesmo procedimento e foram desenvolvidos nos locais descritos no item 5.3.1.

Os resultados obtidos da atividade antileishmania frente às espécies *L. amazonensis* e *L. infantum* estão apresentados nas tabelas 12, 13 e 14. Para todas as moléculas apresentadas, o valor de IC₅₀ em µM foi superior ao valor obtido para o fármaco padrão, a miltefosina, para ambas as espécies descritas e nas formas evolutivas promastigota e amastigota. Sendo assim estas moléculas não apresentaram atividade antileishmania significativa.

Tabela 12. Resultado da atividade antileishmania (IC₅₀ em μM) contra *L. amazonensis* e *L. infantum* dos derivados híbridos 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiossemicarbazona **75a-x**.

ESTRUTURA	R ¹	R ²	POSICÃO 2	L. amazonensis IC ₅₀ (µM)		L. infantum IC ₅₀ (µM)	
				Promastigota	Amastigota	Promastigota	Amastigota
NO ₂			<u>75a</u>	36,23	>535,63	>535,63	>535,63
			<u>75b</u>	348,4	223,14	454,74	>889,91
			<u>75c</u>	222,96	>413,28	133,84	>413,28
			<u>75d</u>	246	204,01	244,07	>855,66
			<u>75e</u>	>417,09	>417,09	>417,09	>417,09
			<u>75f</u>	102,39	>404,46	122,16	>404,46
F			<u>75g</u>	>577,40	>577,40	>577,40	>577,40
			<u>75h</u>	88,64	271,23	131,45	233,19
			<u>75i</u>	24,57	122,77	42,61	126,82
			<u>75j</u>	171,11	199,06	108,25	80,41
			<u>75k</u>	50,49	84,5	49,08	74,23
			<u>75l</u>	113,33	22,8	125,27	22,24
R ¹	R ²	POSICÃO 3	L. amazonensis		L. infantum		
			Promastigota	Amastigota	Promastigota	Amastigota	
NO ₂			<u>75m</u>	>535,63	>535,63	>535,63	>535,63
			<u>75n</u>	104,83	>444,95	82,2	>444,95
			<u>75o</u>	114,83	>413,28	174,3	>413,28
			<u>75p</u>	121,39	>427,83	112,79	>427,83
			<u>75q</u>	191,02	>417,09	152,23	>417,09
			<u>75r</u>	83,31	>404,46	78,97	>404,46
F			<u>75s</u>	>577,40	>577,40	>577,40	>577,40
			<u>75t</u>	126,51	>473,40	180,39	>473,40
			<u>75u</u>	133,04	312,08	145,99	>875,42
			<u>75v</u>	175,06	>454,07	124,64	>454,07
			<u>75w</u>	110,14	>441,98	89,67	>441,98
			<u>75x</u>	263,97	855,66	70,5	>855,66
			15,82	7,07	18	1,67	

MILTEFOSINA

Tabela 13. Resultado da atividade antileishmania (IC_{50} em μM) contra *L. amazonensis* e *L. infantum* dos derivados híbridos 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidinona **77a,b**.

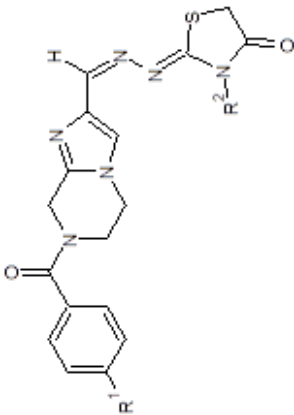
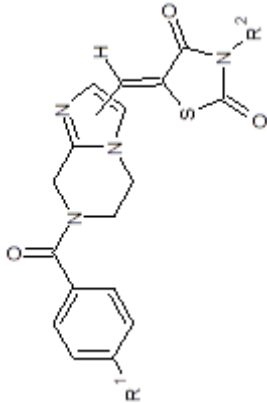
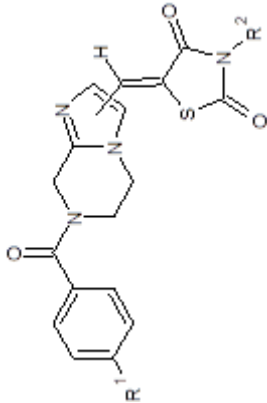
ESTRUTURA	R ¹	R ²	POSICÃO 2	<i>L. amazonensis</i>		<i>L. infantum</i>	
				IC_{50} (μM)	IC_{50} (μM)	IC_{50} (μM)	IC_{50} (μM)
	NO ₂	H	77a	>483,78	>483,78	>483,78	>483,78
		4-OMe-Ph	77b	>384,96	>384,96	>384,96	>384,96
MILTEFOSINA				15,82	7,07	18	1,67

Tabela 14. Resultado da atividade antileishmania (IC₅₀ em µM) contra *L. amazonensis* e *L. infantum* dos derivados híbridos 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidina-2,4-diona **78a-r**.

ESTRUTURA	R ¹	R ²	POSICÃO 2	<i>L. amazonensis</i>				<i>L. infantum</i>	
				IC ₅₀ (µM)	IC ₅₀ (µM)	IC ₅₀ (µM)	IC ₅₀ (µM)	IC ₅₀ (µM)	IC ₅₀ (µM)
				Promastigota	Amastigota	Promastigota	Amastigota	Promastigota	Amastigota
	NO ₂	H	78a	852,54	187,65	968,04	>1000,05		
		-(4-Cl)-CH ₂ COPh	78b	>362,35	>362,35	>362,35	>362,35	>362,35	>362,35
		-(4-F)-CH ₂ COPh	78c	>373,48	>373,48	>373,48	>373,48	>373,48	>373,48
		-(4-NO ₂)-CH ₂ COPh	78d	>355,54	>355,54	>355,54	>355,54	>355,54	>355,54
		H	78e	>373,10	>537,10	>537,10	>537,10	>537,10	>537,10
F		-(4-Cl)-CH ₂ COPh	78f	177,84	41,79	>380,98	47,28		
		-(4-F)-CH ₂ COPh	78g	110,7	>393,32	191,8	>393,32		
		-(4-NO ₂)-CH ₂ COPh	78h	32,41	>373,48	>373,48	>373,48		
		H	78i	1009,11	311,65	934,96	>1040,58		
	NO ₂	H	78j	>500,77	>500,77	353,79	>500,77		
		-(4-Cl)-CH ₂ COPh	78k	>362,35	>362,35	256	>362,35		
		-(4-F)-CH ₂ COPh	78l	116,33	>373,48	141,32	>373,48		
		-(4-NO ₂)-CH ₂ COPh	78m	>355,54	>355,54	140,97	>355,54		
		H	78n	1044,65	266,75	989,07	>1074,20		
F		-(4-Cl)-CH ₂ COPh	78o	510,52	385,9	398,89	>761,97		
		-(4-F)-CH ₂ COPh	78p	277,68	>393,32	>393,32	>393,32		
		-(4-NO ₂)-CH ₂ COPh	78q	689,61	139,1	582,6	>748,36		
		H	78r	111,99	>520,29	160,95	>520,29		
MILTEFOSINA				15,82	7,07	18	1,67		

Os testes realizados para averiguação da atividade antileishmania contra a forma promastigota de *L. major* apresentaram, para todas as moléculas das Séries **75**, **77** e **78**, um valor de IC₅₀ maior que 10 µM exceto para a molécula **78h**. O valor de IC₅₀ apresentado por ela foi igual à pentamidina, fármaco de referência, 1,53 µM com um erro de ±0,13.

Comparando então estruturalmente as séries **57** (isoxazolinazóis aza-bicíclicos) e **78** (5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina), onde ambas apresentam o núcleo tiazolidina-2,4-diona, foi percebido que a isoxazolinazóis aza-bicíclicos é um fator importante para a atividade contra a forma promastigota de *L. major*.

5.3.2. Atividade antichagásica

Os ensaios biológicos para determinação da atividade anti-*Trypanosoma cruzi* foram realizados no Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Departamento de Imunologia do Instituto Aggeu Magalhães/ FIOCRUZ.

5.3.2.1. Série isoxazolinazóis aza-bicíclicos (Séries **56** e **57**)

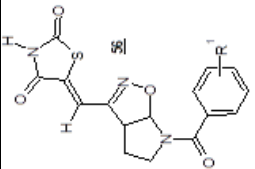
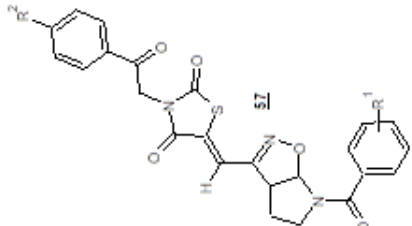
Os resultados da atividade antiparasitária das Séries **56a-g** e **57a-u** frente ao parasita *T. cruzi* para as formas evolutivas epimastigota e tripomastigota estão apresentados na Tabela 15. Podem ser observados resultados positivos para as duas formas evolutivas, sendo os melhores resultados frente a forma epimastigota. A maior parte das moléculas da Série **56** não se apresentaram ativas frente a essa forma evolutiva, com exceção da molécula **56f** que apresentou IC₅₀ de 1,44 µM, sendo a IC₅₀ do benznidazol 10,52 µM para essa forma evolutiva. Dentre as moléculas **57** apenas a molécula **57t**, substituída com o radical NO₂ em R¹ e R² não apresentou atividade anti-trypanossoma.

O resultado da atividade antichagásica frente a forma tripomastigota apresenta valores de IC₅₀ inferiores ao benznidazol. Dentre as moléculas da Série **56**, que não apresenta substituição no nitrogênio da porção tiazolidina-2,4-diona, apenas a molécula **56a** apresentou atividade antichagásica. É possível verificar que as moléculas mais ativas frente à forma tripomastigota são da Série **57**, aquelas que apresentam substituição no átomo de nitrogênio do núcleo tiazolidina-2,4-diona,

podendo ser uma evidência experimental da necessidade de substituição para incremento da atividade tripanocida.

A avaliação da atividade antichagásica frente às formas amastigotas do *T. cruzi* demonstraram que as moléculas sintetizadas apresentaram valores de IC₅₀ superiores ao benznidazol ou foram inativas frente à cepa testada. É importante salientar que, além da forma amastigota ser a fase evolutiva mais importante para ser combatida, é também a forma mais difícil. Por estar localizada dentro da célula, o composto deve passar pela membrana plasmática e adentrar a célula para executar a ação tripanocida. Dentre as moléculas testadas, duas apresentaram os menores valores de IC₅₀, as moléculas **57a** e **57u**, ambas apresentam em sua estrutura molecular átomos de halogênio.

Tabela 15. Resultado da avaliação anti-Trypanossoma (IC₅₀ - µM) das Séries **56a-g** e **57a-u**.

Estrutura	Composto	R ¹	R ²	Trypanosoma cruzi		
				Epimastigota (cepa DM28c)	Tripomastigota (Cepa Y)	Amastigota IC ₅₀ µM (cepa Talahuen)
	56a	4-Cl	H	54,36	14,24	39,997882
	56b	4-F	H	>276,74	>276,74	Inativo
	56c	4-OMe	H	33,63	85,03	>53,564732
	56d	4-terc-butyl	H	85,81	76,65	26,786161
	56e	4-CH ₃	H	ND	197,6	Inativo
	56f	4-NO ₂	H	1,44	>257,49	Inativo
	56g	3-NO ₂	H	57,78	49	>51,499935
	57a	4-Cl	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	7,05	>188,54	9,993023
	57b	4-Cl	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	1,55	>184,86	36,97336
	57c	4-Cl	-CH ₂ CO(4-F)Ph	2,7	>194,58	Inativo
	57d	4-F	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2,5	>194,58	Inativo
	57e	4-F	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	3,31	>190,66	38,133007
	57f	4-F	-CH ₂ CO(4-F)Ph	6,43	>201,01	Inativo
	57g	4-OMe	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2,2	23,75	>38,078140
	57h	4-OMe	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	3,76	>186,38	>37,277963
	57i	4-OMe	-CH ₂ CO(4-F)Ph	3,27	>196,27	39,25417
	57j	4-terc-butyl	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	1,86	26,32	Inativo
	57k	4-terc-butyl	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	9,1	15,8	>35,549235
	57l	4-terc-butyl	-CH ₂ CO(4-F)Ph	2,5	32,15	Inativo
	57m	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2,39	56	>39,218762
	57n	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	2,05	24,28	37,292631±1,537840
	57o	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-F)Ph	4,07	19,47	Inativo
	57p	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	1,73	49,21	36,97336
	57q	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	2,39	37,49	Inativo
	57r	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	5,52	69,42	25,168265
	57s	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	8,68	>184,86	17,192612
	57t	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	17,69	>181,33	Inativo
	57u	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	6,69	>190,66	12,393463
Benznidazol				10,52	40,96	3,8

5.3.2.2. Série 5,6,7,8-tratrahidroimidazo[1,2-a]pirazina (Séries **75a-x**, **77a,b** e **78a-r**)

As Tabelas 16 e 17, apresentadas abaixo, trazem os resultados da avaliação frente ao parasita *T. cruzi* das novas moléculas híbridas **75a-x**, **77a,b** e **78a-r** através

da determinação da IC₅₀, tendo como fármaco padrão o benznidazol. Na Tabela 16 é possível verificar os valores de IC₅₀ e avaliar também a influência da substituição nas posições 2 e 3 para os compostos da série **75a-x**. Grande parte das moléculas que apresentaram atividade significativa frente à forma evolutiva tripomastigota, possui substituição na posição 2 do núcleo 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina.

Tabela 16. Resultado da determinação da IC₅₀ para avaliação da atividade anti-trypanossoma das moléculas **75a-x**.

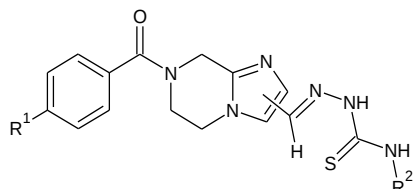
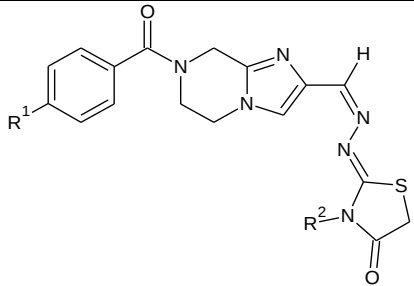
Moléculas 75a-x .									
ESTRUTURA	R ¹	R ²	POSIÇÃO 2	Tripom. IC ₅₀ - μM (Cepa Y)	Epim. IC ₅₀ - μM (Cepa DM28c)	Amast. IC ₅₀ μM (cepa Talahuen)			
	NO ₂	H	75a	>267,81	-	Inativo			
		Ph	75b	2,60	57,53	8,00			
		4-Cl-Ph	75c	6,71	-	6,61			
		4-F-Ph	75d	3,05	12,27	8,55			
		4-OMe-Ph	75e	3,24	-	Inativo			
		4-NO ₂ -Ph	75f	12,97	-	Inativo			
	F	H	75g	7,43	-	Inativo			
		Ph	75h	2,41	11,64	<10,41			
		4-Cl-Ph	75i	1,88	10,54	8,75			
		4-F-Ph	75j	5,85	-	>45,40			
		4-OMe-Ph	75k	3,11	-	6,40			
		4-NO ₂ -Ph	75l	2,35	-	4,06			
				R¹	R²	POSIÇÃO 3	Tripom. IC₅₀ - μM (Cepa Y)	Epim. IC₅₀ - μM (Cepa DM28c)	Amast. IC₅₀ μM (cepa Talahuen)
	NO ₂	H	75m	>267,81	-	Inativo			
		Ph	75n	>222,47	-	13,79			
		4-Cl-Ph	75o	>206,68	-	29,75			
		4-F-Ph	75p	>213,91	-	15,18			
		4-OMe-Ph	75q	>208,54	-	>41,70			
		4-NO ₂ -Ph	75r	6,35	-	Inativo			
	F	H	75s	139,96	-	Inativo			
		Ph	75t	8,94	-	47,34			
		4-Cl-Ph	75u	2,62	6,82	12,69			
		4-F-Ph	75v	6,74	-	>45,40			
		4-OMe-Ph	75w	>200,99	-	>44,19			
4-NO ₂ -Ph		75x	52,11	44,32	37,86+/- 6,84				
Benznidazol				40,96	10,52	3,8			

Tabela 17. Resultado da determinação da IC₅₀ para avaliação da atividade anti-trypanossoma das moléculas **77**.

ESTRUTURA	R ¹	R ²	POSIÇÃO 2	Trypom. IC ₅₀ - μM (Cepa Y)	Epim. IC ₅₀ - μM (Cepa DM28c)	Amast. IC ₅₀ μM (cepa Talahuen)
		H	77a	46,83	-	Inativo
		NO ₂				
		4-OMe- Ph	77b	>94,35	-	>38,49
Benznidazol				40,96	10,52	

Diante dos resultados apresentados na Tabela 16, pode ser verificado que todas as moléculas com R¹ igual a Flúor (com substituição na posição 2) possuem ótimos valores de IC₅₀ frente à tripomastigota, quando comparado ao benznidazol, com IC₅₀ igual a 40,96 μM. A molécula **75i** apresentou uma IC₅₀ frente à forma tripomastigota de 1,88 μM e, frente à forma epimastigota apresentou atividade moderada com uma IC₅₀ semelhante ao benznidazol, 10,54 e 10,52 μM, respectivamente. Das moléculas **75** substituídas na posição 3 apenas a **75r**, **75t**, **75u** e **75v** apresentaram IC₅₀ inferior à do benznidazol frente à tripomastigota, sendo a **75u** também ativa frente à epimastigota com uma IC₅₀ de 6,82 μM. Por outro lado, ainda na Tabela 16, os resultados das moléculas da Série **75** frente à forma evolutiva amastigota variaram de inativos à valores de IC₅₀ superiores ao benznidazol (3,8 μM). Dentre as moléculas que apresentaram algum valor de IC₅₀, as moléculas desta série substituídas em posição 2 apresentaram os menores valores de IC₅₀, como por exemplo a molécula **75l**, com uma concentração inibitória 50% de 4,06 μM.

As moléculas híbridas 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidinona **77** apresentaram atividade tripanocida inferior ao fármaco de referência frente às formas evolutivas tripomastigota e amastigota ou foram inativas. A Tabela 18 apresenta resultados da avaliação da atividade tripanocida das moléculas híbridas **78** frente às formas evolutivas tripomastigota e amastigota.

moléculas que possuem substituição com átomos de halogênio, com grupamentos volumosos e não-volumosos e de eletronegatividade variada mas, os resultados não seguem uma proporção e um padrão para determinar a influência destas características químicas nos valores de IC₅₀. A molécula com melhor resultado anti-tripomastigota foi a **78n**, que apresentou 4,84 µM de concentração inibitória 50%, entretanto esta molécula se apresentou inativa frente à forma amastigota do parasita. Dentre os valores de IC₅₀ frente as formas amastigotas, a molécula **78k** foi a única da série que apresentou um valor inferior ao benznidazol, sendo sua IC₅₀ 3,26 µM. Outras moléculas da série apresentaram valores de IC₅₀ superiores ao benznidazol ou se mostraram inativas frente à essa forma evolutiva.

5.3.3. Determinação da citotoxicidade

A citotoxicidade em células de mamíferos (macrófagos) foi avaliada através de ensaios com MTT. Esse ensaio é baseado na redução dos sais amarelos de tetrazólio por redutases mitocondriais de células metabolicamente ativas. Ao metabolizar o tetrazólio, cristais de formazan são formados no interior dessas células; essas devem ser lisadas para a solubilização e posterior análise por espectrofotometria. A quantidade de formazan produzida é diretamente proporcional ao número de células viáveis. Quanto maior for a viabilidade celular, maior será a proporção de redução do MTT e maior será a absorbância, portanto a CC₅₀ é indiretamente proporcional a quantidade de formazan/absorbância.

A Tabela 19 apresenta os valores encontrados para a citotoxicidade das moléculas da série 2-isoxazolina azabícíclica **56a-q** e **57a-u**. É possível verificar que quando é feita comparação com a CC₅₀ do benznidazol, todas as moléculas apresentaram valores bastante inferiores. Estes dados indicam que as moléculas possuem citotoxicidade superior ao benznidazol. Esse é o único fármaco antiparasitário utilizado atualmente para a doença de Chagas e possui como um grave problema seus efeitos tóxicos, levando ao aparecimento de inúmeros efeitos colaterais. Comparando os resultados apresentados nesta tabela com os resultados que foram apresentados na Tabela 15, as moléculas **56a**, **57k**, **57l** e **57q** se apresentaram ativas frente à forma evolutiva tripomastigota do parasita e apresentaram citotoxicidade superior ao benznidazol. O Gráfico 03 mostra os valores apresentados na Tabela 19, para melhor visualização comparativa.

Quando se trata da citotoxicidade destas moléculas, comparativa ao fármaco miltefosina é possível verificar que todas se apresentaram atóxicas com CC₅₀ superior à 56,67 µM. O estudo da citotoxicidade nas células MRC5 ainda está em andamento, mas, o resultado inacabado demonstra que as moléculas testadas não demonstraram CC₅₀ inferior à 15 µM, citotoxicidade apresentada pelo fármaco padrão do teste, a pentamidina. Portanto, estas moléculas são consideradas não citotóxicas.

Tabela 19. Valores da citotoxicidade (CC₅₀ - µM) das moléculas da série 2-isoxazolina azabíclica **56a-g** e **57a-u** determinados em macrófagos e em MRC5.

Composto	R ¹	R ²	CC ₅₀ - µM (Macrófagos - RAW 264.7)	CC ₅₀ (MRC5)
56a	4-Cl	H	126,01	>100
56b	4-F	H	303,03	
56c	4-OMe	H	250,22	
56d	4- <i>terc</i> -butil	H	113,30	>100
56e	4-toluil	H	229,13	
56f	4-NO ₂	H	127,28	
56g	3-NO ₂	H	278,87	
57a	4-Cl	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	>337,09	
57b	4-Cl	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	>369,73	
57c	4-Cl	-CH ₂ CO(4-F)Ph	196,91	
57d	4-F	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	73,45	
57e	4-F	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	142,00	>100
57f	4-F	-CH ₂ CO(4-F)Ph	>402,03	
57g	4-OMe	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	>380,98	
57h	4-OMe	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	135,09	
57i	4-OMe	-CH ₂ CO(4-F)Ph	>392,54	
57j	4- <i>terc</i> -butil	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	63,22	
57k	4- <i>terc</i> -butil	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	81,78	>100
57l	4- <i>terc</i> -butil	-CH ₂ CO(4-F)Ph	105,60	
57m	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	>392,18	
57n	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	115,07	
57o	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-F)Ph	59,59	
57p	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	>369,73	
57q	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	57,24	
57r	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	202,29	
57s	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	179,48	
57t	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	151,15	
57u	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	187,63	
Benznidazol			459,19	
Miltefosina			56,67	
Pentamidina				15 ± 0,2

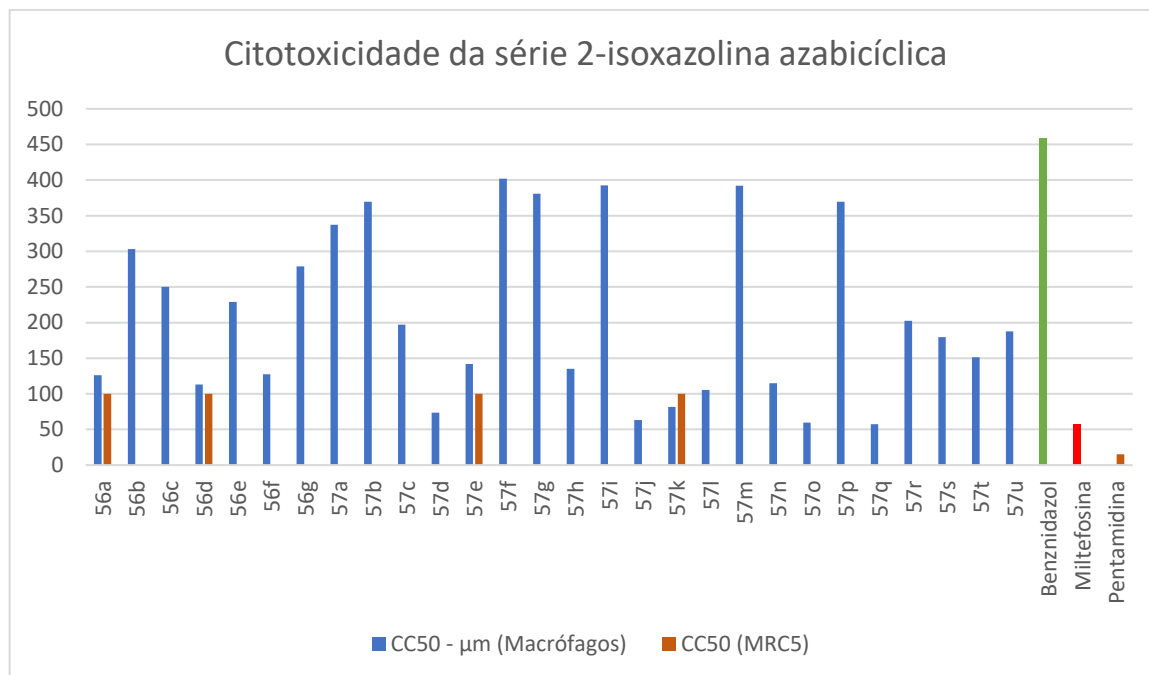


Gráfico 03. Citotoxicidade, em μM , da da série 2-isoxazolina azabicíclica **56** e **57** determinados em macrófagos e em MRC5.

A Tabela 20 apresenta os valores da concentração citotóxica 50% em macrófagos das moléculas híbridas 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina **75a-x**, **77a,b** e **78a-r** testadas pelo mesmo método descrito para a série 2-isoxazolina azabicíclica discutido anteriormente, o teste de medida da concentração de formazan a partir da leitura da absorbância em espectrofotômetro. É possível verificar que, quando comparado à CC₅₀ do benznidazol (459,19 μM) a grande maioria das moléculas se apresentaram tóxicas.

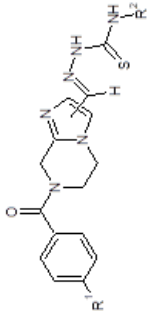
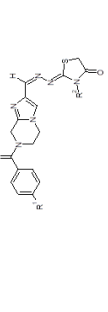
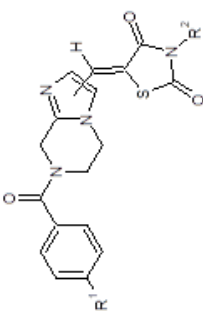
A série dos derivados híbridos **75** apresentou apenas 3 moléculas com atividade não citotóxica. Foram elas as moléculas **75e** (CC₅₀ >471,09 μM) e **75q** (CC₅₀ >577,4 μM) substituída na posição 2 do núcleo 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina e a molécula **75s** (CC₅₀ >577,4 μM) modelizada na posição 3 do núcleo central. As moléculas **75g** e **75h** apresentaram a mesma citotoxicidade e diferem apenas na posição da modelização e, são substituídas em R¹ com o halogênio Flúor e em R² com o átomo de Hidrogênio. Ainda comparando com a CC₅₀ do benznidazol, das duas moléculas híbridas 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidinona **77**, apenas a molécula **77a** apresentou CC₅₀ superior.

As moléculas híbridas **78a-r** também apresentaram um alto percentual de citotoxicidade relativa, quando comparada ao benznidazol. Todas as moléculas substituídas em posição 2 do núcleo central apresentaram CC₅₀ inferior ao fármaco

de referência para a doença de Chagas. Apenas uma molécula substituída na posição 3 apresentou citotoxicidade superior ao benznidazol, a molécula **78j** com o radical NO₂ em R¹, o átomo de Hidrogênio em R² e CC₅₀ >500,77 µM.

O fármaco padrão utilizado para verificação da atividade antileishmania contra as espécies *L. amazonensis* e *L. infantum* foi a miltefosina, que apresentou uma CC₅₀ de 56,67 µM. Analisando comparativamente a citotoxicidade das moléculas testadas com a citotoxicidade apresentada pela miltefosina, apenas alguns exemplares se apresentaram tóxicos. Dentre os derivados **75**, as moléculas **75h**, **75i** e **75k**, substituídas em posição 2, apresentaram CC₅₀ de 31,19, 26,63 e 37,78 µM, respectivamente. Dentre os derivados **75**, substituídos em posição 3, apenas a molécula **75u** (CC₅₀ 49,89 µM) apresentou citotoxicidade. Ambos os compostos citados são derivados fluorados em R¹. Dentre os derivados **77**, as duas moléculas apresentaram boa citotoxicidade relativa, entretando, as moléculas da Série **78** também apresentaram altos valores de CC₅₀, exceto pelas **78k** com CC₅₀ 23,62 µM e **78p** com CC₅₀ 45,52 µM. Ambas possuem substituições com átomos de halogênios o que pode indicar um aumento da citotoxicidade pela presença desses substituintes.

Tabela 20. Valores da citotoxicidade (CC₅₀ - µM) das moléculas da série 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina **75a-x**, **77a,b** e **78a-r** determinados em macrófagos.

ESTRUTURA	R ¹	R ²	POSIÇÃO 2	CC ₅₀ - µM (Macrófagos)	POSIÇÃO 3	CC ₅₀ - µM acrófagos)
	NO ₂	H	75a	272,1	75m	304,5
		Ph	75b	118,06	75n	>444,9
		4-Cl-Ph	75c	152,64	75o	>413,28
		4-F-Ph	75d	111,94	75p	>427,83
		4-OMe-Ph	75e	>471,09	75q	>417,09
		4-NO ₂ -Ph	75f	94,64	75r	>404,46
	F	H	75g	>577,4	75s	> 577,40
		Ph	75h	31,19	75t	236,49
		4-Cl-Ph	75i	26,63	75u	49,89
		4-F-Ph	75j	73,87	75v	84,36
	NO ₂	4-OMe-Ph	75k	37,78	75w	101,96
		4-NO ₂ -Ph	75l	105,78	75x	>427,83
	NO ₂	H	77a	>483,78	-	-
		4-OMe-Ph	77b	>94,35	-	-
	NO ₂	H	78a	292,26	78i	>500,77
		-(4-Cl)-CH ₂ COPh	78b	116,24	78k	23,62
		-(4-F)-CH ₂ COPh	78c	195,89	78l	126,25
		-(4-NO ₂)-CH ₂ COPh	78d	130,66	78m	140,47
		H	78e	117,08	78n	309,63
		-(4-Cl)-CH ₂ COPh	78f	63,45	78o	79,66
	F	-(4-F)-CH ₂ COPh	78g	79,96	78p	45,52
		-(4-NO ₂)-CH ₂ COPh	78h	154,13	78q	110,47
	OMe	H	78i	215,76	78r	277,05
BENZINIDAZOL				459,19		459,19
MILTEFOSINA				56,67		56,67

6. CONCLUSÃO

A série 2-isoxazolina azabíclica **56a-g** e **57a-u** foi devidamente sintetizada sem grandes problemas, utilizando a expertise do grupo de pesquisa. As novas moléculas sintetizadas, assim como os novos intermediários ésteres, álcoois e aldeídos isoxazolínicos e as 28 novas moléculas híbridas 2-isoxazolina/tiazolidina-2,4-diona, tiveram algumas características físico-químicas determinadas e foram caracterizadas estruturalmente através das análises espectroscópicas de RMN de ^1H e ^{13}C , assim como através dos espectros no infravermelho. Grande parte dessa série teve sua massa exata determinada através da análise de massas de alta resolução (MALDI-TOF).

A obtenção das moléculas híbridas da série 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina **75a-x**, **77a,b** e **78a-r** foi realizada com sucesso. A síntese das moléculas finais e de todos os intermediários foi realizada sem maiores dificuldades, exceto pelos sais **70a** e **70b** que foram utilizados sem prévia purificação. Apenas duas moléculas da série híbrida 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidinona **77a,b** foram sintetizadas. A identificação delas foi feita pela análise de massas e infravermelho. A identificação dessas através das análises de RMN será refeita, mas, a síntese e purificação foi desenvolvida conforme descrito na literatura e sem complicações.

As estruturas das moléculas híbridas 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiossemicarbazona **75a-x** e 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina/tiazolidina-2,4-diona **78a-r** foram completamente elucidadas através das análises espectrométricas de RMN de ^1H e ^{13}C unidimensionais e bidimensionais, infravermelho e massas e também tiveram suas características físico-químicas determinadas.

As moléculas sintetizadas, de ambas as séries, foram submetidas às análises para determinação da atividade anti-Trypanossoma e anti-Leishmania, contra os parasitas, *T. cruzi* e 3 espécies do gênero *Leishmania* (*L. amazonensis*, *L. infantum* e *L. major*), além dos testes de citotoxicidade.

Moléculas de ambas as séries apresentaram atividade antiparasitária. Para a série 2-isoxazolina azabíclica as moléculas **57c**, **57d**, **57f** e **57l** se apresentaram ativas frente à forma promastigota das espécies *L. amazonensis* e *L. infantum* e, as moléculas **57a**, **57i** e **57o** apresentaram atividade apenas frente a espécie *L. infantum* sob a forma evolutiva promastigota. As moléculas desta série não apresentaram

atividade frente à forma evolutiva amastigota das espécies *L. amazonensis* e *L. infantum*. Por outro lado, frente a forma evolutiva promastigota da espécie *L. major*, 70% das moléculas foram ativas. Contra o parasita *T. cruzi* apenas as moléculas **57e** e **57k** apresentaram uma IC₅₀ inferior ao benznidazol, frente as formas tripomastigotas do protozoário. As moléculas dessa série apresentaram valores de IC₅₀ superiores ao benznidazol ou foram inativas frente à forma amastigota do parasita.

As moléculas da série 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina não apresentaram atividade anti-Leishmania para as três espécies testadas, entretanto algumas moléculas tiveram interessante atividade frente à forma tripomastigota do *T. cruzi*. A maior parte das moléculas ativas da série **75a-x** possuem o átomo de flúor, indicando uma possível relação da presença deste halogênio com a atividade biológica em questão. As moléculas da série **77a,b** não apresentaram atividade anti-tripanosoma e dentre as moléculas da série **78a-r**, a molécula **78n** apresentou melhor atividade frente à forma tripomastigota e a molécula **78k** frente à forma amastigota.

Os resultados de citotoxicidade das moléculas da série 2-isoxazolina azabíclica demonstraram que as moléculas não apresentaram citotoxicidade quando comparadas com as CC₅₀ dos fármacos padrão benznidazol, pentamidina e miltefosina, testados contra *T. cruzi*, *L. major* e *L. amazonensis* e *L. infantum*, respectivamente. A série 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina demonstrou que as moléculas apresentaram citotoxicidade quando comparado ao benznidazol. Por outro lado, relacionando os valores de CC₅₀ com miltefosina, as moléculas **77a,b** apresentaram boa citotoxicidade relativa, mas, as moléculas **75h**, **75i**, **75k**, **75u** se apresentaram citotóxicas, assim como as moléculas **78k** e **78p**. Entretanto a grande maioria das moléculas tiveram baixa citotoxicidade.

Resultados de estudos mais específicos, como o *biding* e *docking* destas moléculas também estão em progresso. Todos os resultados estarão presentes nos artigos que estão sendo redigidos, resultados deste trabalho.

Sendo assim, 5 séries de novas moléculas que possuem os núcleos isoxazolinazabíclica e 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina, foram sintetizadas, fazendo um total de 72 moléculas, que se apresentaram promissoras quanto à atividade anti-Trypanossoma e anti-Leishmania.

RESUMÉ

1- INTRODUCTION

Les Maladies Tropicales Négligées (MTN) constituent un groupe de maladies le plus répandu dans les pays tropicaux ou subtropicaux et sont principalement présentes dans la population la plus pauvre, dépourvue d'assainissement adéquat et en contact avec des vecteurs. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus d'un milliard de personnes dans le monde sont touchées par l'une de ces maladies, ce qui entraîne un coût économique élevé (Organisation mondiale de la santé (OMS), 2018a). L'OMS classe 17 maladies parmi les maladies tropicales négligées, causées par des parasites comprenant des virus, des bactéries ou des eucaryotes ; Ce dernier groupe comprend la maladie de Chagas et la leishmaniose, toutes deux causées par des protozoaires de la famille des trypanosomatidés.

Environ 8 millions de personnes dans le monde sont infectées par le *Trypanosoma cruzi* (agent responsable de la maladie de Chagas) et la grande majorité des personnes infectées sont concentrées en Amérique Latine ; environ 10 000 personnes meurent chaque année (WHO, 2016). Actuellement, seuls deux médicaments sont utilisés pour traiter cette parasitose, le benznidazole et le nifurtimox. En ce qui concerne la leishmaniose, une maladie causée par des parasites du genre *Leishmania spp*, il existe 3 types de maladies qui peuvent être causées par différentes espèces du parasite. L'épidémiologie de cette maladie varie en fonction du type de leishmaniose, ainsi que du traitement et de la gravité de l'infection, le type le plus sévère étant la leishmaniose viscérale (WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2018b).

La maladie de Chagas et la leishmaniose sont des maladies graves qu'il convient de traiter correctement, ainsi que toutes les maladies négligées, mais la découverte et le développement de nouveaux médicaments sont extrêmement lents. L'industrie pharmaceutique ne s'intéresse pas à ce type de recherche en raison du coût élevé et du faible incitatif financier (GARCIA-SALCEDO et al., 2016). En outre, l'un des problèmes majeurs en matière de traitement des maladies infectieuses est la résistance de l'agent causal aux médicaments utilisés, ainsi que l'apparition d'effets secondaires graves et d'un traitement inefficace à tous les stades de la maladie. Le développement de nouveaux médicaments pour le traitement de ces maladies est extrêmement important.

Le développement de nouveaux médicaments biologiquement actifs peut être accompli par le biais de diverses méthodes. Medicinal Chemistry a plusieurs méthodologies pour la création de nouvelles molécules biologiquement actives, y compris l'hybridation moléculaire. Cette méthode consiste à joindre différents groupes pharmacophores dotés de propriétés pharmacologiques différentes ou non, afin d'obtenir de nouvelles molécules hybrides (VIEGAS-JUNIOR et al., 2007). L'optimisation de l'activité biologique et d'autres caractéristiques pharmacologiques peut être vérifiée, y compris un effet pharmacologique différent de celui présenté à l'origine.

Compte tenu de la grande importance rapportée dans la littérature des 2-isoxazoline et des noyaux de 2,4-thiazolidinediones en tant qu'activité antitumorale (KAMAL et al., 2012; PRAJAPTI et al., 2015; RÉGO et al., 2014), antimicrobiens (MANDAWAD et al., 2014; NIKAM et al., 2015), antichagasique (DE MENEZES et al., 2016), antileishmania (LEITE et al., 2016), antidiabétique (MISHRA; SACHAN; CHAWLA, 2015), entre autres; et aussi les résultats obtenus par notre groupe de recherche et d'expertise, ce travail a notamment pour objectif la synthèse de nouvelles molécules, par hybridation moléculaire des noyaux rapportés (Figure 01), avec une activité antichagasique et antileishmanienne.

La deuxième partie de ce grand travail est la synthèse de nouvelles molécules hybrides avec les noyaux imidazo [1,2-a] pyrazine, thiosemicarbazone, thiazolidine-2,4-dione et thiazolidinone. Ces noyaux présentent une activité antiparasitaire dans la littérature, tels que l'antileishmania (LEITE et al., 2016; MARCHAND et al., 2015) et les antichagasique (MOREIRA et al., 2014; MORENO-RODRÍGUEZ et al., 2014), entre autres (MARHADOUR et al., 2012). Compte tenu de cela, les tests biologiques des nouvelles molécules hybrides (Figure 01) seront également effectués contre les parasites *T. cruzi* et *Leishmania spp.*

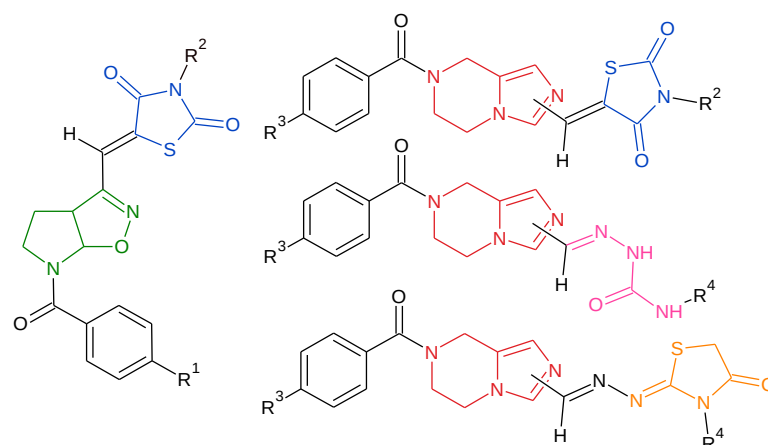


Figure 01. Molécules hybrides contenant les noyaux 2-isoxazoline aza-bicycliques (en vert), la thiazolidine-2,4-dione (en bleu), l'imidazo [1,2-a] pyrazine (en rouge), la thiosemicarbazine (en rose) et la thiazolidinone (orange).

2- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

2.1- MALADIE DE CHAGAS

2.1.1- Épidémiologie

La maladie de Chagas était une maladie rurale, initialement présente chez les animaux sauvages, mais avec les changements socio-économiques, l'exode rural, la déforestation et l'urbanisation, le scénario changeait et, au fil des années, cette maladie acquit un profil épidémiologique plus urbain. périurbain et se concentre principalement sur la population la plus pauvre d'une région donnée.

Selon l'OMS, *T. cruzi* infecte actuellement environ 8 millions de personnes dans le monde, l'Amérique Latine étant la région la plus touchée. La mortalité due à la maladie de Chagas atteint plus de 10.000 personnes par an. Dans cette infection, il n'y a pas de prédominance sexuelle, mais les enfants sont les plus touchés en ce qui concerne la transmission du vecteur à domicile (WHO, 2018c).

Ces dernières années, la présence de la maladie de Chagas en dehors de l'Amérique Latine, en provenance de pays d'endémie, a été traitée très sérieusement. Cela est dû à la mobilité de la population et principalement à la migration. En 1970, par exemple, les États-Unis ont accueilli un grand nombre d'immigrants latino-américains. Selon les Centres de Contrôle et de Prévention des Maladies (CDC), environ 300.000 personnes sont infectées par *T. cruzi* et la grande majorité des personnes infectées est présente dans sa population immigrée. Dans ce pays, de

rares cas d'infection par ce parasite sont dus à la transmission par l'insecte vecteur (CANTEY et al., 2012; SCHMUNIS, 2007). Habituellement, cette transmission se produit dans les cas de transfusion sanguine et de transfusion mère-enfant dans la grande majorité des pays non endémiques (Canada et certains pays européens), sans transmission par l'insecte vecteur (Figure 02).

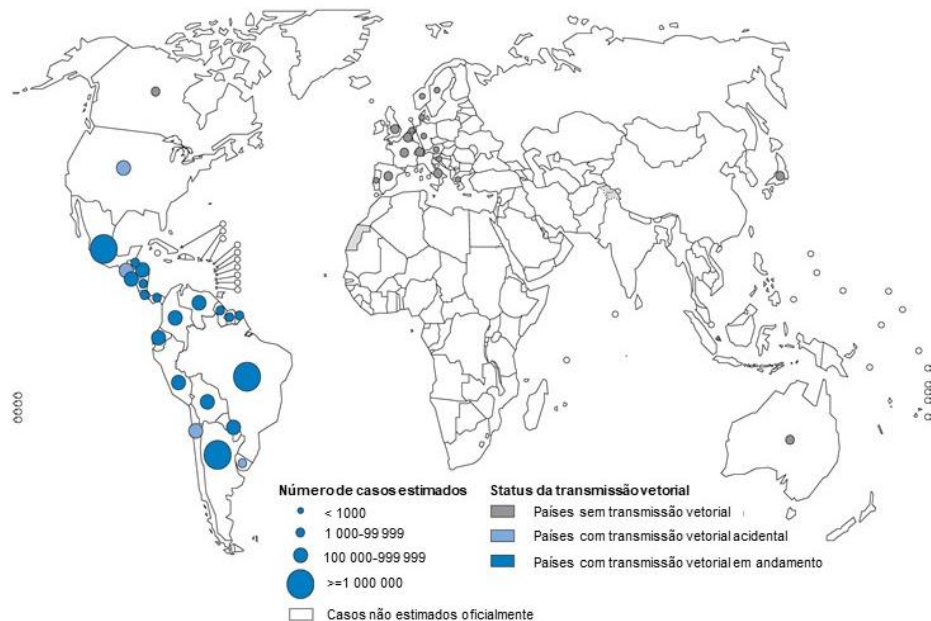


Figure 02. Répartition des cas d'infection à *Trypanosoma cruzi* d'après les estimations officielles et l'état de transmission du vecteur, 2006-2009. Source : OMS - Organisation mondiale de la santé. (Adapté de: <http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/GI>)

2.1.2- Le parasite : *Trypanosoma cruzi*

L'agent responsable de la maladie de Chagas est un parasite flagellé de la famille des Trypanosomatidae, le *T. cruzi* (Figure 03). Il a deux hôtes, un invertébré et un vertébré, l'homme. Le *Triatoma infestans* est la principale espèce hôte invertébrée (Figure 03). Cet insecte hématophage est également connu sous le nom de barber, car il préfère se nourrir de la région faciale de l'homme. Il a des habitudes domestiques presque strictes et est présent dans plusieurs pays d'Amérique du Sud.

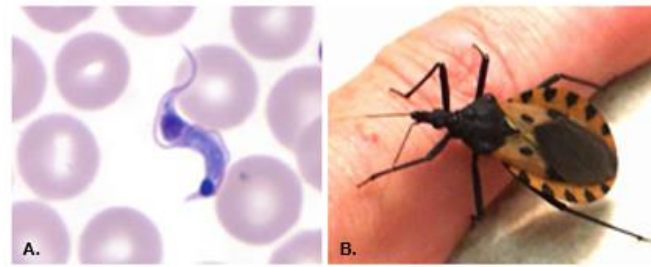


Figure 03. A. *Trypanosoma cruzi* (forme trypomastigote). B. *Triatoma infestans* (Barber). (Adapté de: <http://www.cdc.gov/parasites/chagas/index.html>)

Le *T. cruzi* est un parasite hétéroxénique qui a besoin de deux hôtes pour compléter son cycle évolutif. La différenciation cellulaire a lieu au cours des phases du cycle évolutif, passant par 3 formes différentes du parasite : trypomastigote, épimastigote et amastigote. La forme infectieuse pour l'hôte invertébré est le trypomastigote et pour l'homme, le trypomastigote métacyclique. Le premier vient de l'homme et le second de l'insecte. La figure 04 montre le cycle évolutif de *T. cruzi* et toutes ses formes évolutives.

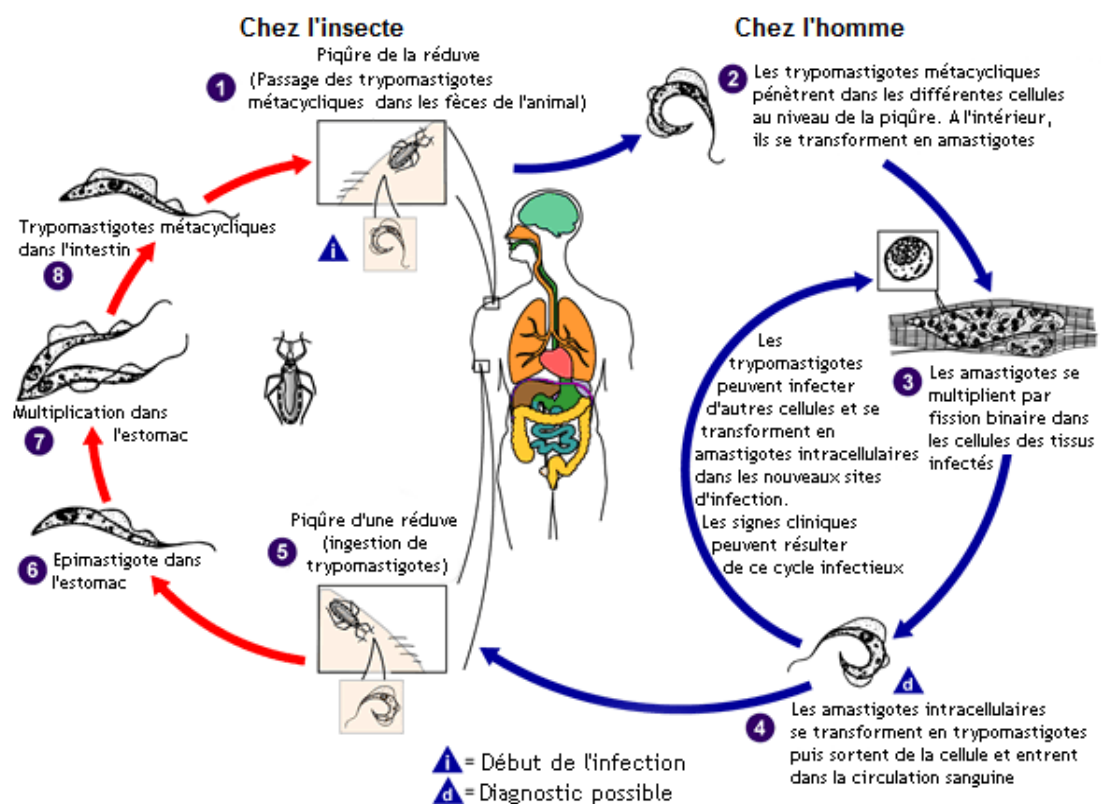


Figure 04. Cycle évolutif de *Trypanosoma cruzi*. (Adapté de : <http://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>)

2.1.3- Phases de la maladie de Chagas

La maladie passe par trois phases distinctes : aiguë, indéterminée et chronique. La phase aiguë, qui est la phase initiale de la maladie, est caractérisée par la présence de quelques symptômes tels que fièvre, hépatosplénomégalie et, selon l'emplacement de la porte d'entrée du parasite, l'apparition d'un chagome, d'un œdème provoqué par une inflammation provoquée par la morsure de l'insecte transmetteur, ou le signe de Romaña, œdème oculaire bipalpébral unilatéral causé lorsque la porte d'entrée des parasites est la conjonctive oculaire. La phase indéterminée est asymptomatique et dépend de plusieurs facteurs, tels que la virulence parasitaire et la susceptibilité de la personne touchée (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, [s.d.] ; RASSI; RASSI; MARCONDES DE REZENDE, 2012). La phase chronique est caractérisée par une atteinte cardiaque complexe, une augmentation du volume du cœur et des organes du tube digestif. À ce stade, le patient a besoin de beaucoup de soins médicaux et c'est également à ce stade que les médicaments antichagasiques actuels, le benznidazole et le nifurtimox sont les moins actifs (WHO, 2018d).

2.1.4- Traitement de la maladie de Chagas

Actuellement seulement deux médicaments antichagasiques sont utilisés en médecine pour traiter cette maladie, le benznidazole **1** et le nifurtimox **2** (figure 05). Les deux sont des substances nitrohétérocycliques, la première étant un dérivé de nitroimidazole et la seconde, un dérivé de nitro furane. Ils présentent une activité antichagasique significative dans la phase aiguë de la maladie avec une guérison parasitologique de 60 à 80%(PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018; VIOTTI et al., 2014). Cependant, la forte toxicité et la grande quantité d'effets secondaires présents lors de l'utilisation de ces médicaments, ainsi que la présence de parasites résistants, soulignent le besoin impérieux de développer de nouvelles substances antichagasiques (TESTON et al., 2013).

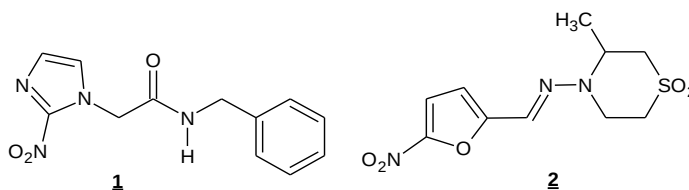


Figure 05. Benznidazole **1** et Nifurtimox **2**, médicaments antichagasiques.

L'action de ces dérivés nitrés est due à la formation de composés toxiques dans les cellules par réduction enzymatique du groupe nitro, ce qui entraîne la formation de radicaux libres augmentant le stress oxydatif de la cellule et entraînant la mort du parasite (BERMUDEZ et al., 2016). Les nitroredutases sont des enzymes impliquées dans ce processus et peuvent être de deux types, différenciées par la sensibilité à l'oxygène. A. Le type I est insensible à l'oxygène et permet des réductions impliquant deux électrons. Le type II est sensible à l'oxygène et les réductions auxquelles il participe n'impliquent qu'un électron (SCARIM et al., 2018). La présence de souches de *T. cruzi* résistantes au benznidazole et au nifurtimox entraîne la nécessité de rechercher de nouvelles substances antichagiques ayant un autre mécanisme d'action, telles que les inhibiteurs de la synthèse de l'ergostérol, les inhibiteurs de la topoisomérase de type 1, les inhibiteurs de la cruzaine, l'anhydrase carbonique, entre autres (BERMUDEZ et al., 2016 ; DE MENEZES et al., 2016 ; PAN et al., 2013 ; SCARIM et al., 2018).

2.2- LEISHMANIOSE

2.2.1- La maladie et l'épidémiologie

La leishmaniose est une maladie parasitaire considérée par l'OMS comme une maladie tropicale négligée (NTD) et fait donc partie d'un groupe de 17 maladies ainsi caractérisées. L'agent étiologique de cette maladie est le parasite flagellé du genre *Leishmania*, qui compte plus de 20 espèces infectieuses chez l'homme et qui est transmis par la piqûre du moustique phlébotome. Cette maladie peut se présenter de trois manières différentes : la leishmaniose cutanée (CL), la leishmaniose cutanéocutanée ou cutanée (LMC ou LT) et la leishmaniose viscérale ou calazar (LV) (WHO, 2018f).

Selon l'OMS, 97 pays et territoires dans le monde sont considérés comme endémiques à cette maladie. En 2018, 50 pays étaient considérés comme endémiques au LV et 52 pays au LC. Chaque année, le nombre de nouveaux cas varie de 0,7 à 1 million et la mortalité de 20 à 30.000 décès par an (WHO, 2018f). Les conditions socioéconomiques, la malnutrition, la mobilité de la population, les changements environnementaux et climatiques sont de riches facteurs qui influent directement sur la situation épidémiologique mondiale de la maladie.

2.2.2- Leishmaniose cutanée (LC) e Leishmaniose muco-cutanée (LMC)

Considérée comme le type de maladie la plus répandue, la leishmaniose cutanée peut être causée par plusieurs espèces de *Leishmanies*. Dans le nouveau monde les espèces les plus souvent à l'origine cette maladie, étant endémiques dans la région, sont *Leishmania amazonensis*, *Leishmania mexicana*, *Leishmania chagasi*, *Leishmania naiffi*, *Leishmania braziliensis* et *Leishmania guyanensis*. En ce qui concerne les espèces causatives de LC dans le vieux monde, les plus courantes sont *Leishmania major*, *Leishmania tropica* et *Leishmania infantum* (DE VRIES ; REEDIJK ; SCHALLIG, 2015). Cette maladie est anthroponotique ou zoonotique, c'est-à-dire qu'elle ne touche pas seulement les humains, mais aussi d'autres animaux ; Les animaux domestiques sont ceux qui, lorsqu'ils sont infectés, risquent le plus de propager la maladie (BURZA ; CROFT ; BOELAERT, 2018).

La LC est une maladie transmise principalement par la piqûre du moustique phlébotome, au début la lésion. La LC peut varier en fonction de l'espèce parasite, des facteurs génétiques de l'hôte et de l'étendue de la réponse immunitaire. Initialement, la lésion se présente comme une papule indolore qui évolue vers une lésion ulcéreuse. Ils peuvent se répandre dans tout le corps et leur gravité varie également (PACE, 2014). Pour guérir, cela prend des mois, voire des années de traitement et peut laisser des cicatrices et des modifications de la pigmentation de la peau (HANDLER et al., 2015).

La LMC est principalement causée par *Leishmania braziliensis*, mais aussi par *Leishmania panamensis*, *Leishmania guyanensis* et *Leishmania amazonensis*, entre autres. Dans ce type de leishmaniose, les régions les plus touchées sont le nez, la bouche et la gorge. Les symptômes sont initialement non spécifiques, tels qu'une réponse inflammatoire locale, posant des difficultés pour un pronostic précoce, mais à mesure que la maladie progresse, l'ulcère se forme lentement. Selon l'OMS, 90% des cas de LMC sont présents en Bolivie, au Brésil, en Éthiopie et au Pérou (CROVETTO-MARTÍNEZ et al., 2015 ; GOTO ; LAULETTA LINDOSO, 2012 ; WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2019a).

2.2.3- Leishmaniose Viscérale (LV) ou Kalazar

La leishmaniose viscérale (LV) ou kalazar est le type de leishmaniose le plus grave et peut entraîner 95% de décès chez les patients non traités. Elle affecte des organes internes tels que le foie, la rate et la moelle osseuse et peut se développer des mois ou des années après la piqure d'un moustique (PREVENTION, 2018). Les symptômes les plus courants de cette maladie sont l'anémie, la cachexie progressive, la fièvre, l'hépatomégalie (foie hypertrophié), la splénomégalie (rate hypertrophiée), la diarrhée, entre autres, et affectent également le système immunitaire de l'hôte définitif. Les espèces responsables de cette maladie sont *Leishmania donovani* et *Leishmania infantum* (*Leishmania chagasi* en Amérique du Sud) (PACE, 2014 ; VAN GRIENSVEN ; DIRO, 2012).

2.2.4- Le parasite et son cycle de vie

Le parasite *Leishmania spp* appartient à la famille des Trypanosomatidae, de la même famille que *Trypanosoma cruzi* et a donc un cycle de vie similaire. Ce parasite a seulement deux formes évolutives, promastigotes et amastigotes. La première est la forme infectieuse (flagellée) et la seconde est la forme intracellulaire (non flagellée), respectivement. Le cycle biologique de *Leishmania spp*, illustré à la figure 06, comprend deux phases, l'un chez l'hôte vertébré (humain ou animal) et l'autre chez l'hôte intermédiaire. La transmission de la maladie se fait principalement par la piqure du moustique phlébotome, qui injecte le parasite sous la forme de promastigote. Le parasite est ensuite phagocyté par les cellules du système immunitaire humain et se différencie au sein de la cellule en forme d'amastigote. Dans les cellules, les amastigotes se multiplient et envahissent d'autres cellules (BURZA ; CROFT; BOELAERT, 2018 ; KAPIL ; SINGH ; SILAKARI, 2018 ; VAN GRIENSVEN ; DIRO, 2012).

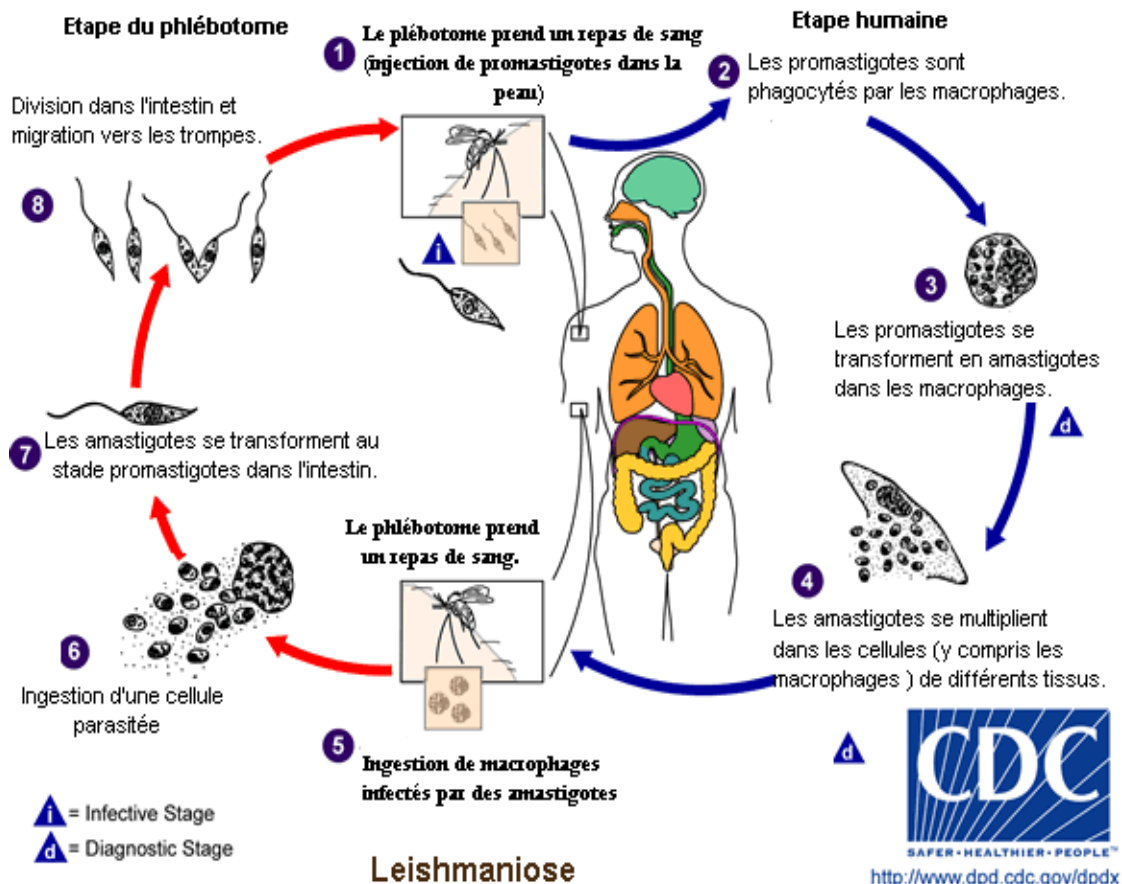


Figure 06. Cycle de vie du parasite *Leishmania* spp. Adapté de: Central Disease Control (CDC).

2.2.5- Diagnostic et traitement

Le diagnostic de la leishmaniose peut être posé par diagnostic clinique, parasitologique et immunologique. Il est extrêmement important d'observer le parasite (amastigote) au microscope au moyen de l'analyse des aspirats de tissus. D'autres tests peuvent également être effectués pour diagnostiquer ce type de leishmaniose, tels que des tests sérologiques, tels que le test ELISA (Enzyme Immunosorbent Assay) et des tests moléculaires, tels que le test PCR (C-Reactive Protein) (GEORGIADOU ; MAKARITSIS ; DALEKOS, 2015 ; VAN GRIENSVEN ; DIRO, 2012).

Actuellement, plusieurs médicaments sont utilisés pour traiter la leishmaniose. Le type de médicament, la posologie et l'éventuelle association d'agents antileishmanicides peuvent varier en fonction du type d'infection et de sa gravité. Les principaux médicaments utilisés sont les complexes d'antimoine tels que Glucantime®, l'amphotéricine B, la miltéfosine, la paramomycine, entre autres (figure 07) (JAIN ; JAIN, 2013 ; MCGWIRE ; SATOSKAR, 2014).

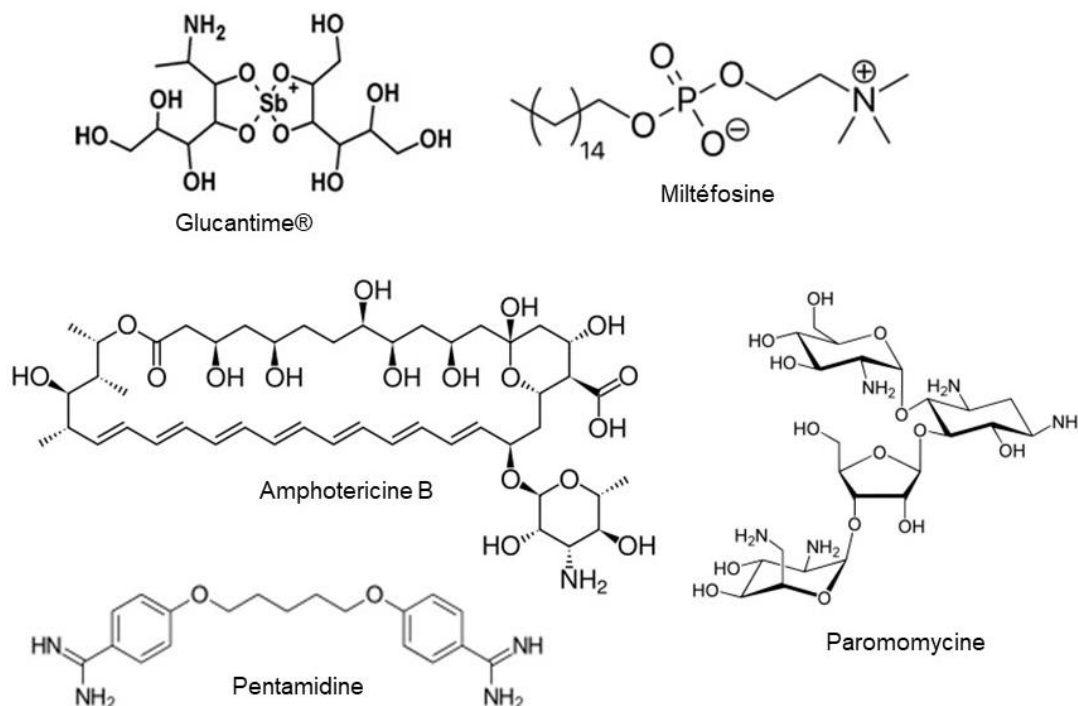


Figure 07. Structures chimiques des substances utilisées dans le traitement de la leishmaniose.

Cependant, le traitement actuel de la leishmaniose présente certaines limites, telles que la voie d'administration. Tous les médicaments utilisés sont à usage parentéral, à l'exception de la miltéfosine, ce qui rend difficile l'observance du traitement approprié. En outre, les effets toxiques, la longue durée du traitement, le coût et l'apparition de parasites résistants rendent nécessaire l'émergence de nouvelles substances (JAIN ; JAIN, 2013 ; NO, 2016). Une alternative à l'obtention de médicaments moins toxiques, par exemple, est le ciblage de la synthèse de nouveaux médicaments sur des cibles parasitaires spécifiques telles que l'enzyme ptéridine réductase, entre autres.

2.3- ISOXAZOLINE

Les composés hétérocycliques sont ceux qui ont dans leur chaîne cyclique au moins deux atomes différents. Les isoxazolines sont des représentants de ces types de composés, car ils ont dans leur constitution 5 atomes de carbone, à savoir les carbones, l'oxygène et l'azote. Dans la littérature, il existe de nombreux rapports sur des molécules biologiquement actives contenant le noyau 2-isoxazoline. Plusieurs activités peuvent être citées comme anticancéreux (KHAZIR et al., 2013; SHI et al., 2012), antibactérienne (KIRAN KUMAR; UMA RAVI SANKAR; KIM, 2014;

MANDAWAD et 2014), antipaludique (KALARIA; SATASIA; RAVAL, 2014), antagoniste de l'acide glutamique (PINTO et al., 2011), immunopotentiants (ISMAIL et al., 2015), insecticide (WANG et al., 2012), antirétroviral (ZHANG et al., 2012), anti-inflammatoire (GHIDINI et al., 2015), antinociceptive (REIS et al., 2011), anthelminthique (MONDAL et al., 2012), antichagastique (DE MENEZES et al., 2016), entre autres (DALLANOCE et al., 2012). La figure 08 illustre certaines molécules biologiquement actives qui possèdent le noyau 2-isoxazoline.

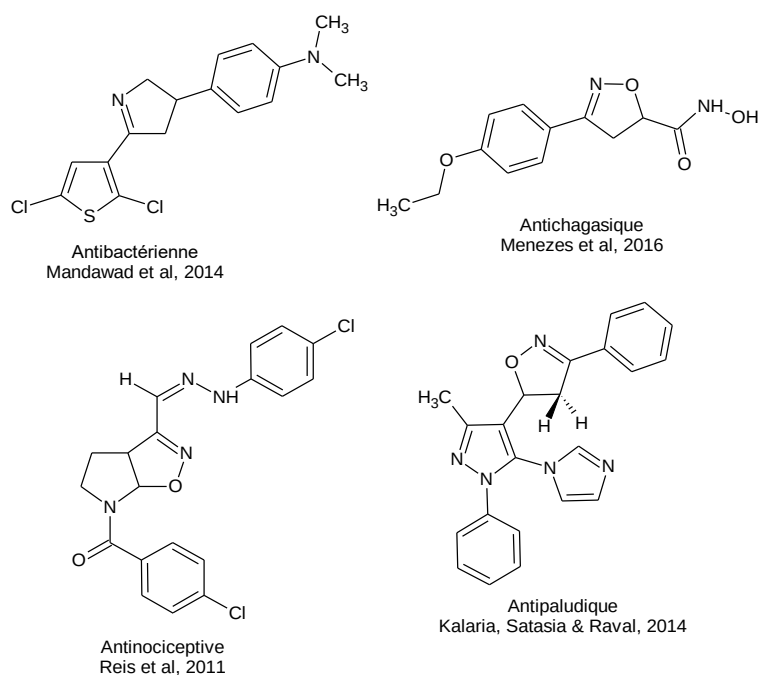


Figure 08. Des exemples de molécules biologiquement actives contenant le groupe 2-isoxazoline.

Le noyau 2-isoxazoline peut être obtenu par différentes méthodes. L'une des plus utilisées est la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire (BISWAS; KUMAR; DAS SARMA, 2013; KONDACS et al., 2015), également appelée cycloaddition [3 + 2]. Ce modèle de synthèse consiste en la formation d'un hétérocycle, appelé cycloadduct, par la réaction entre un dipôle et un dipolarophile (schéma 01).

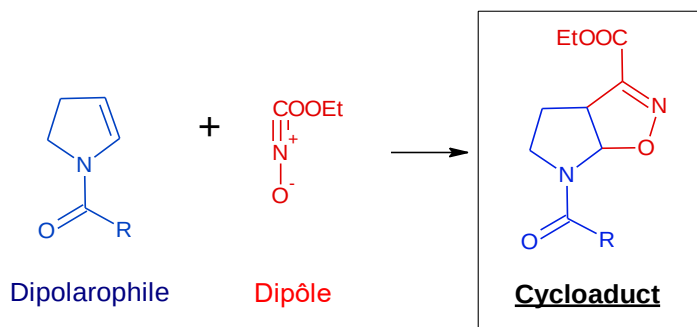


Schéma 01. Exemple de réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire (DE ALMEIDA et al., 2009).

Le mécanisme de réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire peut être expliqué par la théorie des Orbitales Moléculaires Frontière (FOM). L'explication est basée sur l'interaction de l'HOMO (Orbitale Moléculaire Occupée à Haute Énergie) et de LUMO (Orbitale Moléculaire Non-occupée à Plus Basse Énergie) des dipôles et des dipolarophiles. Le facteur déterminant est la dépense d'énergie la plus faible pour la formation d'un sous-produit. Cette théorie justifie également la régiospécificité et la stéréospécificité de la cycloaddition 1,3-dipolaire (ESS; HOUK, 2008; HOUK, 1975; KAMIMURA; HORI, 1994; ZHAO et al., 2004).

Les cétones et les aldéhydes α , β -insaturés peuvent donner lieu au noyau 2-isoxazoline à partir de l'hydroxylamine. Suivant cette stratégie de synthèse, Yang et al, en 2014 (schéma 02), ont synthétisé des molécules de cétoximes α , β -insaturées **18**, issues de leurs cétones respectives par voie radicalaire, en utilisant également le radical *tert*-butoxyle (t-BuO). Le produit de cette réaction, la 2-isoxazoline, est sous forme radicalaire **19** et constitue un substrat pour la formation du produit final **20** obtenu (YANG et al., 2014).

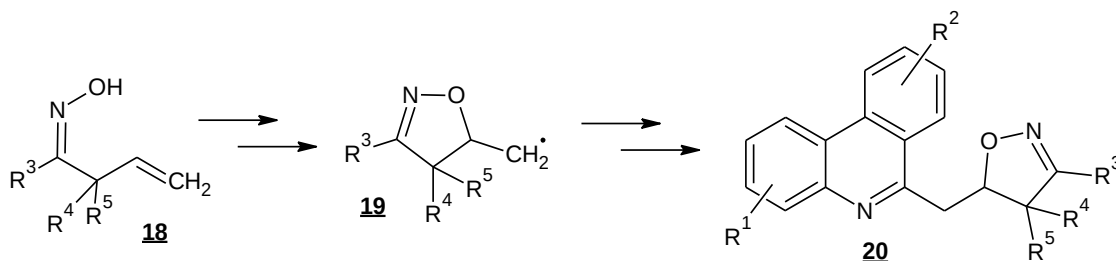


Schéma 02. Synthèse d'isoxazoline de phénanthridines fonctionnalisées synthétisées par Yang et al en 2014.

2.4- THIAZOLIDINE-2,4-DIONE

Le noyau thiazolidine-2,4-dione est hétéropentacyclique, de même que les 2-isoxazolines. Ils ont beaucoup de pertinence dans la littérature et dans le domaine de la chimie médicinale. Actuellement, plusieurs médicaments commercialisés ont dans leur molécules le noyau thiazolidine-2,4-dione, également connu sous le nom de glitazone. Les médicaments antidiabétiques Avandia®, fabriqués par le laboratoire pharmaceutique GlaxoSmithKline, contenant la molécule Rosiglitazone **21** et Actos®, fabriqués par le laboratoire Takeda, dont la molécule est la Pioglitazone **22** (MOHAMMED IQBAL et al., 2012; NASTASĂ et al., 2013) en sont quelques exemples (figure 09).

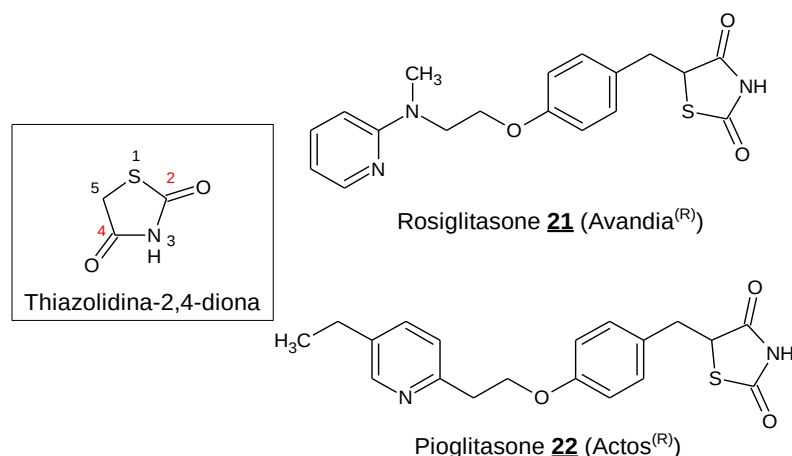


Figure 09. Thiazolidine-2,4-dione noyau et les molécules Rosiglitazone **21** et Pioglitazone **22**.

Le noyau thiazolidine-2,4-dione est couramment synthétisé à partir de la réaction aqueuse de la thiourée **24** avec l'acide monochloroacétique **25** au reflux. Mishra, Sachan & Chawla, en 2015, ont synthétisé le noyau thiazolidine-2,4-dione en suivant cette procédure (schéma 03). Plusieurs dérivés de celui-ci, tels que le dérivé **26**, contenant le noyau de la coumarine, ont montré des résultats prometteurs en ce qui concerne les activités antidiabétiques, anti-inflammatoires et antioxydantes (MISHRA; SACHAN; CHAWLA, 2015).

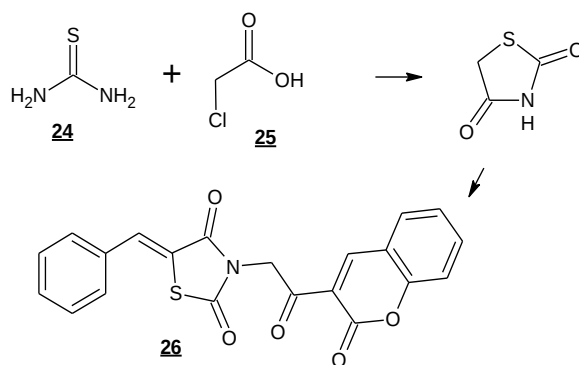


Schéma 03. Synthèse de la thiazolidine-2,4-dione par Mishra, Sachan et Chawla en 2015.

2.5- IMIDAZO[1,2-a]PYRAZINE

Le noyau imidazo[1,2-a]pyrazine est un hétérobicycle aromatique important formé par la jonction du cycle hétérocyclique azoté pyrazine avec un cycle imidazole (Figure 12). Des nombreuses molécules sont rapportées dans la littérature montrant des activités biologiques importantes, contenant ce noyau, comme antiprolifératif (GARAMVÖLGYI et al., 2016), antileishmania (MARCHAND et al., 2015), inhibiteur de l'aurore kinase (BELANGER et al., 2010), antibactérien (SAYER et al., 2014), antivirale (HUANG et al., 2015), inhibition de la polymérisation de la tubuline (AN et al., 2016), antithrombotique (CHEN et al., 2017) (Figure 10).

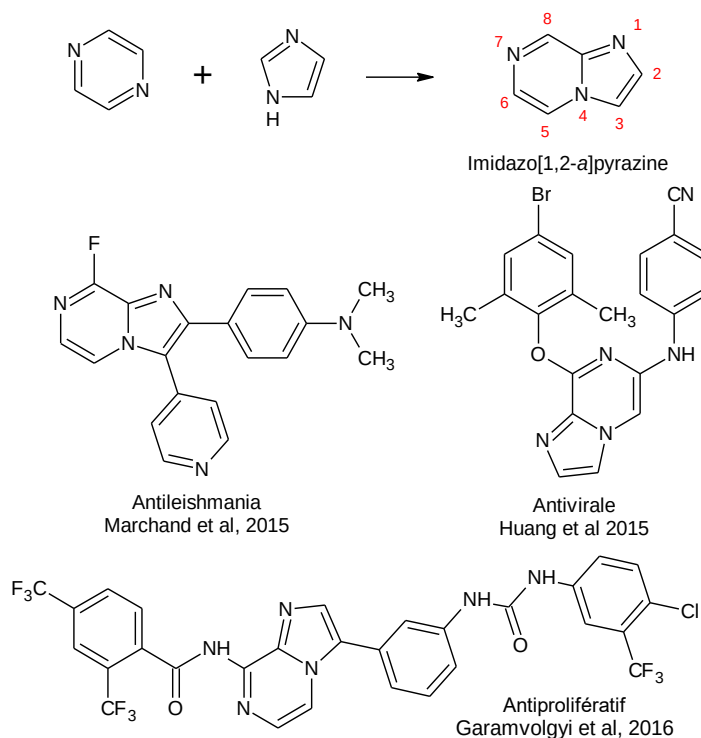


Figure 10. Structure basique de l'imidazo [1,2-a] pyrazine et des molécules décrites dans la littérature contenant ce noyau à activité biologique prouvée.

Le noyau imidazo [1,2-a]pyrazine est généralement obtenu par synthèse à partir de deux composants, qui peuvent être la 2-aminopyrazine **30** ou ses dérivés avec des composés α -halocarbonyl ou α , β -époxy-carbonyl, ou par synthèse. à partir de 3 composants, qui peuvent être la 2-aminopyrazine **30** ou ses dérivés avec des aldéhydes et l'isonitrile (GOEL; LUXAMI; PAUL, 2015).

Rao et ses collaborateurs (2018) ont synthétisé les nouvelles molécules **32** contenant de l'imidazo[1,2-a]pyrazine à partir de la réaction de condensation de la 2-aminopyrazine **30** avec des bromoacétophénonnes substituées **31** (schéma 04) en utilisant de l'eau comme solvant de la réaction, basée sur les principes de la chimie verte, et du rayonnement micro-ondes. Il s'agissait d'une nouvelle procédure de réaction d'hétéroanulation sans catalyseur mise au point par ce groupe de recherche. Le mécanisme réactionnel (schéma 04) a également été proposé et la réaction se produit éventuellement par une séquence de substitution nucléophile du brome suivie d'une cyclisation intramoléculaire et de l'élimination ultérieure d'une molécule d'eau (RAO et al., 2018).

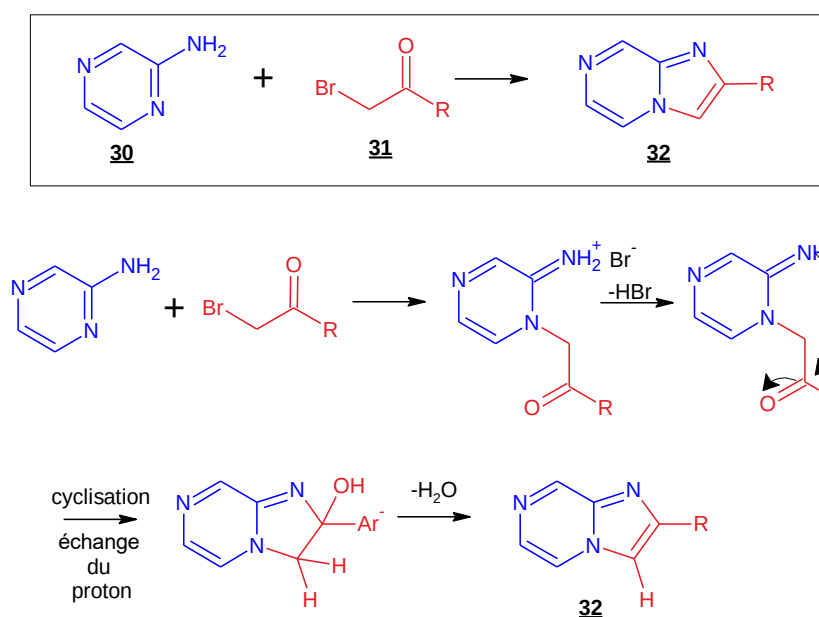


Schéma 04. Schéma de synthèse de l'imidazo[1,2-a]pyrazine et mécanisme proposé mis en œuvre par Roe et Claboradores (2018).

La synthèse du noyau imidazo[1,2-a]pyrazine peut également être réalisée à partir de la condensation à trois composants (BLACKBURN et al., 1998). Ce type de réaction est très intéressant car en une étape, il est possible de former la molécule

souhaitée. Mckeown et ses collaborateurs (2014) ont synthétisé comme dérivés les dérivés de l'imidazo[1,2-a]pyrazine **35** en utilisant de la 2-aminopyrazine **30**, des benzaldéhydes substitués **33** et des nitriles substitués **34**. La réaction (schéma 05) a été réalisée sous rayonnement micro-ondes et du triflate de scandium ($\text{Sc}(\text{OTf})_3$) a été utilisé comme catalyseur avec des rendements significatifs (MCKEOWN et al., 2014).

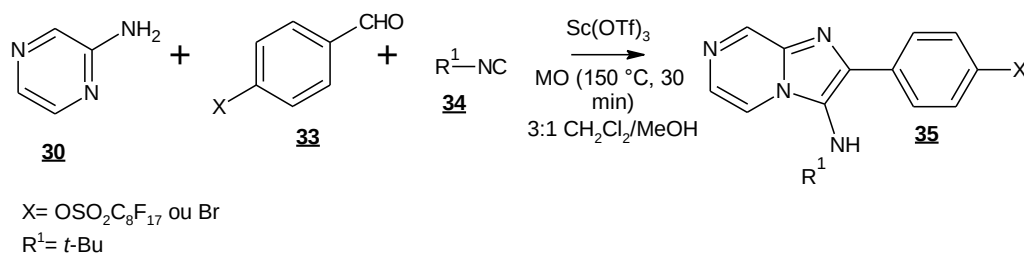


Schéma 05. Synthèse de dérivés d'imidazo[1,2-a]pyrazine à partir d'une réaction à plusieurs composants réalisée par Mckeown et ses collaborateurs (2014).

2.6- THIOSEMICARBAZONES ET THIAZOLIDINONES

Les thiosemicarbazones sont des composés hétérocycles très importants car ils possèdent de nombreuses activités biologiques rapportées dans la littérature. Sa synthèse peut être réalisée directement à partir de la réaction d'aldéhydes ou de cétones avec des thiosemicarbazides, catalysée par un acide en milieu alcoolique et sous chauffage. La synthèse de ces composés peut former un mélange d'isomères ou la prévalence de l'un d'entre eux. La présence de substituants peut favoriser la formation d'un isomère ou d'un autre, comme décrire les études menées par Espíndola et ses collaborateurs en 2015.

Les thiazolidinones sont d'importants composés hétérocycliques qui peuvent être synthétisés de quelques manières, mais l'une des plus courantes consiste à cycliser les thiosemicarbazones avec du chloroacétate d'éthyle dans un milieu alcoolique avec acétate de sodium anhydre. En 2006, Küçükgülzel et ses collègues ont synthétisé les 4-thiazolidinones à partir de cette méthodologie de synthèse (schéma 06). Les molécules développées ont vu leur activité antivirale vérifiée. Dans cette étude, les thiosemicarbazides précurseurs **40** ont démontré une activité antivirale plus importante que leurs 4-thiazolidinones **41** (KÜÇÜKGÜZEL et al., 2006).

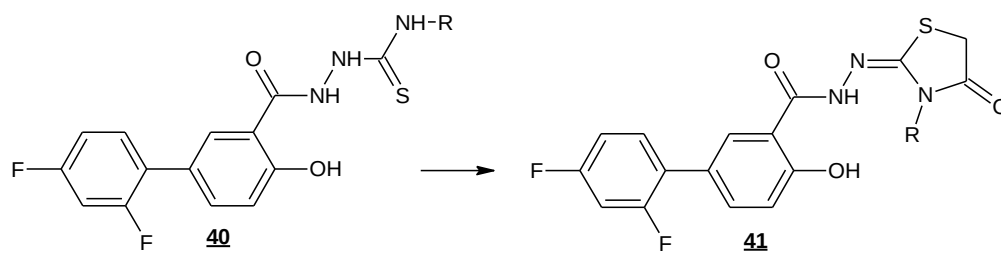


Schéma 06. Synthèse de 4-thiazolidinones à partir de thiosemicarbazones avec du chloroacétate d'éthyle et de l'acétate de sodium anhydre dans de l'éthanol, par Küçükgül et ses collaborateurs (2006).

3- CHAPITRE 1 - SERIE AZA-BICYCLIQUE 2-ISOXAZOLINE

3.1- LES OBJECTIFS

3.1.1- Objectif général

Synthétiser et évaluer l'activité trypanocide de nouveaux dérivés hybrides de la thiazolidine-2,4-dione-isoxazoline, ainsi que l'étude de la fixation de ces molécules.

3.1.2- Objectifs spécifiques

- a- Synthèse de la série de nouvelles thiazolidines isoxazolines **56a-q** et **57a-u** issues de la réaction de charge cyclique 1,3-dipolaire des énamides endocycliques **45a-q**.
- b- Purification et détermination des propriétés physicochimiques des nouvelles molécules obtenues **56a-q** et **57a-u**.
- c- Élucidation structurale de nouvelles molécules **56a-q** et **57a-u** par résonance magnétique nucléaire (^1H et ^{13}C), spectroscopie infrarouge et spectrométrie de masse.

3.2- PARTIE 1 METHODOLOGIE

Le schéma 07 représente la voie de synthèse de l'isoxazoline aldéhyde **52a-q**, des intermédiaires de la synthèse des nouvelles molécules hybrides de l'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione **56a-q** et **57a-u**. Les énamides endocycliques **45a-q** sont les matériaux de départ pour la voie de synthèse. Ils ont été obtenus à partir du trimère de 1-pyrroline **43**, qui souffre une detrimerization par ultrason. Le trimère **43** est obtenu par l'oxydation de la pyrrolidine **42** en milieu basique par le persulfate de sodium. Ensuite, la cycloaddition 1,3-dipolaire entre les énamides endocycliques **45a-q** et le *N*-oxyde nitrile (oxyde de carboéthoxyphormonitrile - CEFNO) **47a** conduit à des cycloadducts de l'isoxazoline **48a-q** qui, aura ensuite le groupe ester en C3 réduit par NaBH_4 formant des alcools isoxazolines azabicycliques **49a-q**. Ceux-ci subissent une légère oxydation par réaction de Swern (MANCUSO; HUANG; SWERN, 1978) produisant les isoxazoline aldéhydes azabicycliques correspondants **52a-q**.

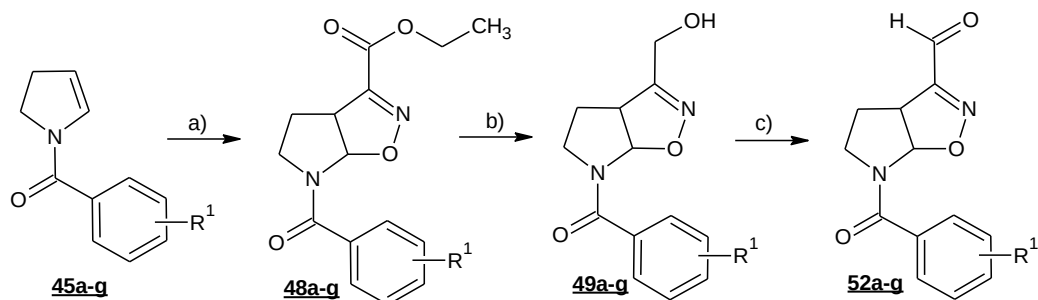


Schéma 07. Synthèse de les isoxazoline aldéhydes **52a-g**. Réactifs et conditions : (a) chloroxyacétatéthylacétate d'éthyle, TEA (anhydre), THF (anhydre), 30 min, t.a.; b) NaBH₄, MeOH (anhydre), 1 heure à 0 ° C, puis 1 heure à la température ambiante c) DMSO (anhydre), chlorure d'oxalyle, TEA (anhydre), 27 min, -70 ° C.

La dernière étape de la synthèse des nouvelles molécules est la condensation de la thiazolidine-2,4-dione **53** ainsi que la condensation des dérivés de thiazolidine *N*-substitués **55a-c** avec les isoxazoline aldéhydes azabicycliques **52a-g** (schéma 08). Cette réaction est appelée « condensation de Knoevenagel » et se produit en utilisant l'acétate de sodium anhydre comme base, dans l'acide acétique glacial comme solvant (NASTASAST et al., 2013).

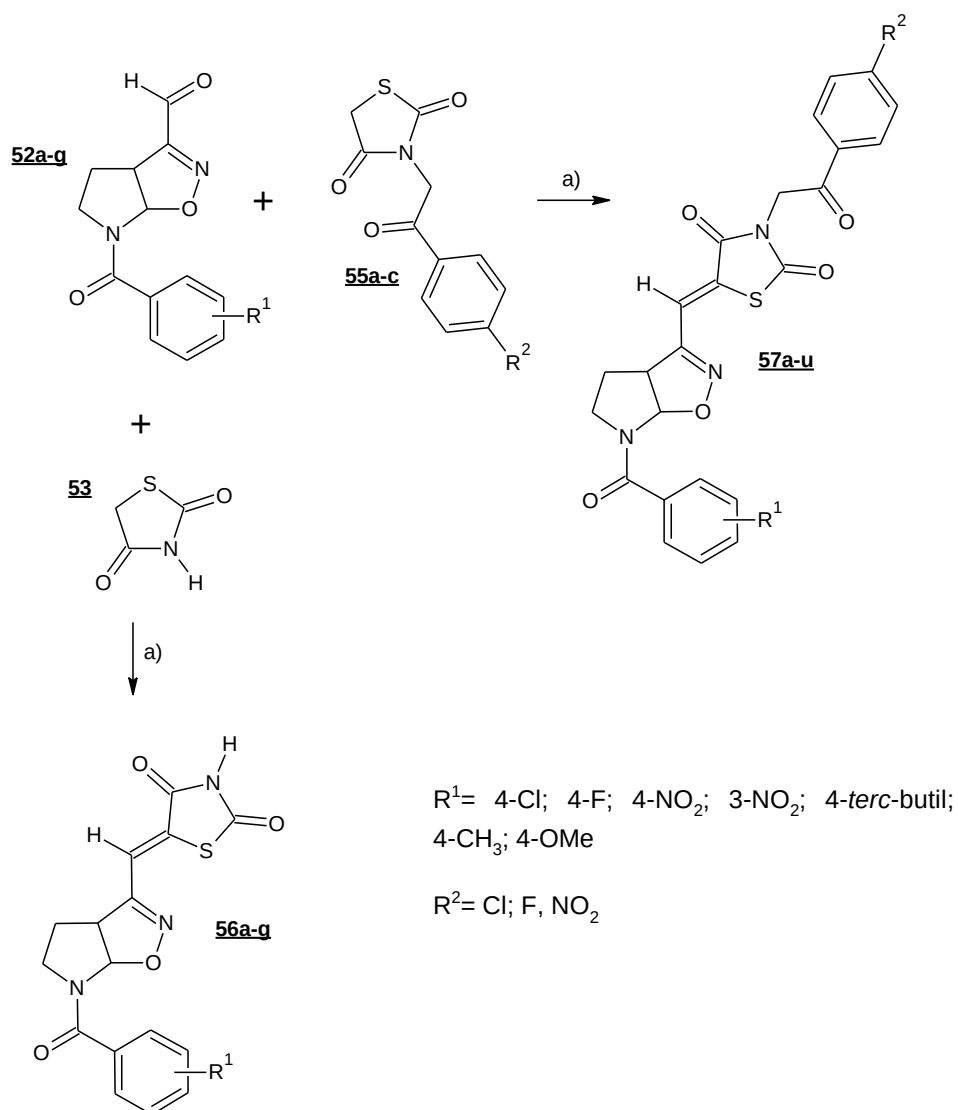
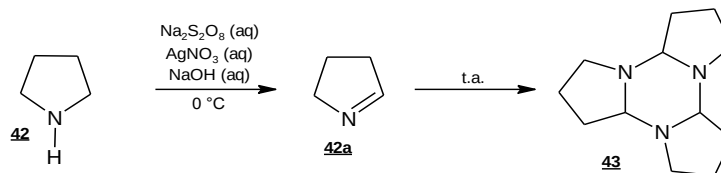


Schéma 08. Voie de synthèse pour obtenir de nouveaux dérivés d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione **56a-g** et **57a-u**. Réactifs et conditions : AcONa anhydre, AcOH glacial, 130 ° C, 2 heures.

3.3- RESULTATS ET DISCUSSION

3.3.1- Synthèse du trimère de 1-pyrroline **43**



Le trimère **43** de la 1-pyrroline est formé par l'oxydation de la pyrrolidine **42** en milieu basique avec du persulfate de sodium à $0\text{ }^\circ\text{C}$. Le nitrate d'argent est utilisé comme catalyseur (Nomura et al, 1977). Dans notre groupe de recherche, l'importance de l'agitation vigoureuse du milieu réactionnel a été vérifiée. Elle est essentielle pour un bon revenu.

La 1-pyrroline **42a** est hautement réactive en raison de la double liaison polarisée et la paire d'électrons libres à l'azote. Cela provoque également une instabilité élevée, ce qui entraîne la formation du trimère **43** (figure 11). Cette structure plus stable est formée à la température ambiante, mais en fournissant de l'énergie thermique au composé, est possible à nouveau obtenir de la 1-pyrroline **42a**.

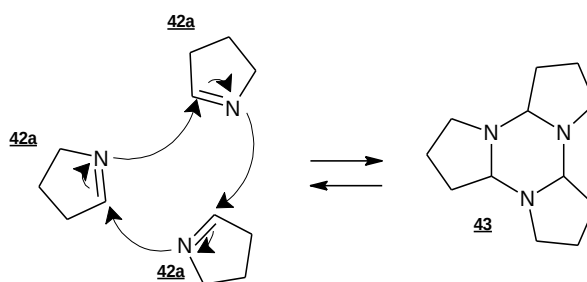
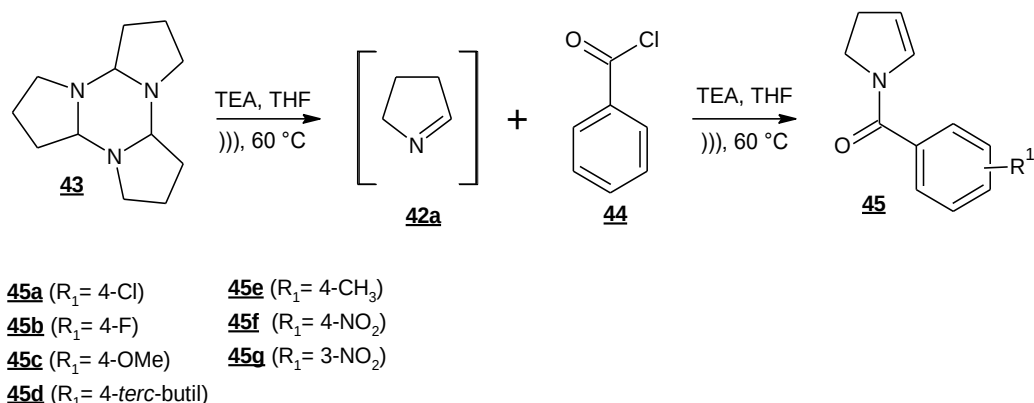


Figure 11. Trimérisation de la 1-pyrroline **42a** : Formation du trimère **43** à la température ambiante.

Notre groupe de recherche, ainsi que Nomura et al. (1977) et Kraus & Neuenschwander (1981) la vérification de l'instabilité du trimère de la 1-pyrroline **43**. Le trimère est sensible à l'élévation de température en présence d'acides. Ces perturbations conduisent à la décomposition. En conséquence, le produit ne doit pas être gardé en stock pour longues périodes (KRAUS; NEUENSCHWANDER, 1981; YUJIRO et al., 1977).

3.3.2- Synthèse des enamides endocycliques **45a-g**



La synthèse des énamides *N*-benzoylé substitués **45a-g** a lieu en deux étapes. Initialement, une solution du trimère de 1-pyrroline **43** brut et de TEA a été traitée par l'ultrason et chauffée pendant 30 minutes. A ce stade, le monomère de 1-pyrroline **42a** est formé. La présence de la base, la TEA, est importante pour éviter une possible dégradation du monomère. Il a été constaté que l'augmentation de la durée de cette étape n'entraînait pas de changement de rendement. La destrimèrimation du trimère **43** réalise probablement un équilibre chimique avec le monomère **42a**.

La deuxième étape est l'ajout lent du chlorure de benzoylé *p*-substitué **44**, toujours sous traitement aux ultrasons et chauffage. La fin de la réaction a été vérifiée par CCM en observant l'absence de la tache en se référant au chlorure de benzoylé *p*-substitué **44** dans l'ultraviolet (UV).

La viscosité élevée du produit brut a posé des problèmes de purification. Cette caractéristique est causée par la présence de chlorure de triéthylammonium, un sous-produit. Le sel n'est pas complètement insoluble dans le THF. Les tentatives d'élimination complète de ce sous-produit ont été infructueuses car elles ont entraîné la dégradation de l'énamide **45**. Premièrement, l'extraction aqueuse a été testée, mais le caractère amphotère de l'eau a provoqué une dégradation rapide du produit principal par son action acide. La seconde alternative était l'induction de la précipitation de sel en utilisant de l'acétate d'éthyle. La dégradation de l'énamide **45** a également été observée, toutefois, plus lentement que l'extraction aqueuse. De l'acétate d'éthyle préalablement distillé a été utilisé pour éliminer les traces d'acide acétique et d'autres contaminants, mais une dégradation de l'énamide s'est produite.

Les énamides **45a-g** précédemment substitués par un groupe *N*-aryle ont également été synthétisés dans notre groupe de recherche (Dos Santos, 2003)

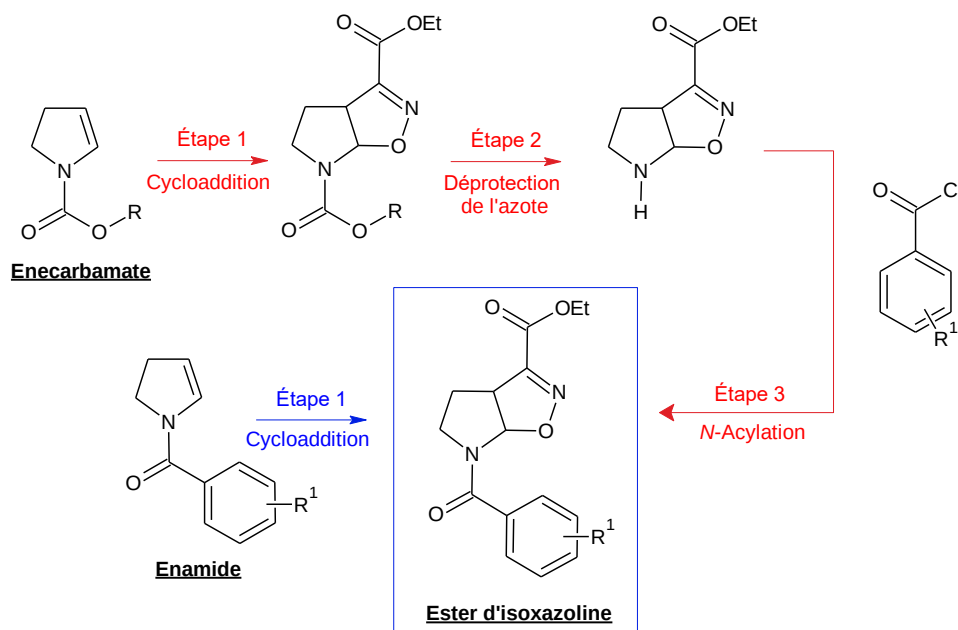
également en deux étapes, la première consistant à co-distiller le monomère 1-pyrroline **42a** dans le THF. Le chauffage conduit à une détrimérisation et le monomère est co-distillé avec du THF et recueilli à -78 °C. A cette température, il n'y avait pas assez d'énergie pour dégrader le monomère **42a**, il est resté stable. La deuxième étape a été réalisée en ajoutant le chlorure de benzoyle *p*-substitué **44** à la solution de monomère de 1-pyrroline **42a** et la TEA au reflux.

Les rendements obtenus par les deux méthodes de synthèse sont décrits dans le tableau 01. Aucun changement significatif a été observé, mais l'utilisation du trimère brut **43** et de la détrimérisation induite par ultrasons est une avancée majeure. Cette méthodologie est inconnue dans la littérature. L'optimisation de cette nouvelle forme de synthèse d'énamides **45a-g** est peut-être en mode de purification. La révélation des réactions brutes par la chambre UV du CCM montre la formation d'un seul produit, l'énamide *N*-aryle substitué **45a-g**.

Tableau 01. Rendements obtenus à partir de la synthèse de l'énamide *N*-aryle substitué **45** par ultrasons et co-distillation du trimère (Dos Santos, 2003).

Enamides <i>N</i> -aryle substitué 45a-g	Rendiment (ultrason)	Rendiment (Dos Santos, 2003)
45a : <i>p</i> -Cl	21	-
45b : <i>p</i> -F	24	20
45c : <i>p</i> -OMe	24	28
45d : <i>p</i> -terc-butyl	27	50
45e : <i>p</i> -toluyl	12	-
45f : <i>p</i> -NO ₂	16	24
45g : <i>m</i> -NO ₂	9	16

Une synthèse par voie de synthèse alternative des énamides **45a-g** peut être réalisée. Dans notre groupe de recherche, en plus des énamides, des énécarbamates ont été synthétisés à partir du trimère de 1-pyrroline **43**, le rendement obtenu était compris entre 55 et 65%. Cependant, l'utilisation de cette voie augmente le nombre d'étapes pour obtenir l'ester de l'isoxazoline *N*-acylé **48a-g**, comme le montre le schéma 09.

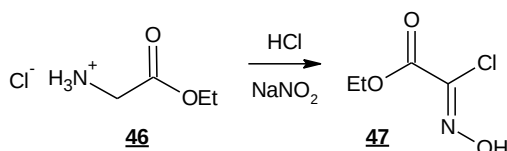


R= Ethyl, Fenyl
 R¹= 4-Cl, 4-F, 4-OMe, 4-*terc*-butyl, 4-CH₃, 4-NO₂, 3-NO₂

Schéma 09. Voies alternatifs pour la synthèse d'esters d'isoxazoline. Route rouge : La synthèse de l'énécabamate comporte 3 étapes. Route bleue : La synthèse à partir des énamides comporte une étape.

Pour le choix de la procédure de synthèse de l'énamide **45a-g**, soit en codistillant le trimère de 1-pyrroline **43**, soit en détruisant le trimère brut par ultrasons, les deux procédés ont été testés, mais les rendements obtenus lors de la synthèse par co-distillation des deux énécabamates en tant qu'énamides, était inférieur à ceux rapportés par Dos Santos et Almeida et al. Le problème est probablement que la co-distillation du monomère **42a** de 1-pyrroline n'est pas efficace. Par conséquent, la synthèse des *N*-arylénamides substitués **45** a été choisie comme le meilleur moyen d'obtenir les cycloadducts d'isoxazoline **48a-g** plus rapidement, malgré les faibles rendements.

3.3.3- Synthèse du chlorooximidoacétate d'éthyle **47**: précurseur du CEFNO **47a**

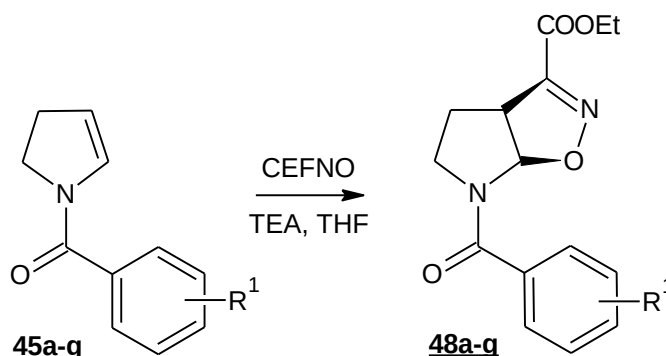


Le chlorooximidoacétate d'éthyle **47** a été formé par l'oxydation du chlorhydrate de glycine estérifié **46** et du nitrite de sodium a été utilisé en tant qu'agent oxydant.

Ceci est une oxydation acide. La stabilité de **47** offre la possibilité d'une production à plusieurs grammes pour le stockage. Sa purification est effectuée par recristallisation dans l'hexane. Le rendement obtenu dans cette réaction était de 39%.

Dans la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire avec les énamides endocycliques **45**, l'oxyde de carboéthoxyphormonitrile **47a**, CEFNO, est formé *in situ* à partir de chlorooxyphoacétate d'éthyle **47**.

3.3.4- Synthèse racémique de l'ester d'isoxazoline **48a-g**



La formation du noyau isoxazoline aza-bicyclique présent dans le cycloadduct **48a-g** se produit à ce stade de la synthèse. Il est formé par la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire entre les énamides endocycliques **45a-g** et l'oxyde de carboéthoxyphormonitrile (CEFNO) **47a**, formé *in situ* par la réaction de son précurseur, le chlorooximidoacétate d'éthyle **47** et la base de triéthylamine.

Pour obtenir l'ester d'isoxazoline **48a-g**, une solution du précurseur de chlorooximidoacétate d'éthyle **47** a été ajoutée lentement sous une solution des énamides endocycliques **45** et TEA à la température ambiante. L'addition lente du précurseur dipolaire est de la plus haute importance pour réduire la formation de dimères de CEFNO **47b** (Figure 12). En surveillant la réaction de cycloaddition par CCM, il est possible de vérifier la formation de dimère, ceci conduit à compromettre le rendement de la réaction. Pour cette raison, les précurseurs **47** et TEA sont en excès dans le milieu réactionnel.

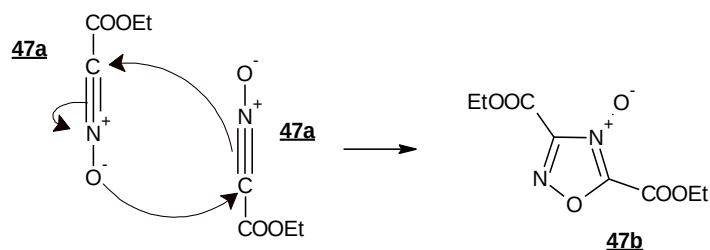


Figure 12. Dimérisation du CEFNO.

La synthèse des cycloadduits d'isoxazoline **48a-g** s'est déroulée comme prévu dans les travaux précédents (DE ALMEIDA et al., 2009) et les rendements sont présentés dans le tableau 02.

Tableau 2. Rendements obtenus à partir de réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire.

Cycloadduit d'isoxazoline 48a-g	Rendements (%)
48a : <i>p</i> -Cl	66
48b : <i>p</i> -F	38
48c : <i>p</i> -OMe	66
48d : <i>p</i> - <i>tert</i> -butyl	58
48e : <i>p</i> -toluyl	55
48f : <i>p</i> -NO ₂	44
48g : <i>m</i> -NO ₂	79

Dos Santos, en 2003, a proposé un mécanisme de synthèse possible du noyau aza-bicyclique 2-isoxazoline (Figure 13). La réaction de cycloaddition est contrôlée par les orbitales frontières moléculaires. Dans ce cas, en raison de la linéarité du nitrile *N*-oxyde CEFNO (alényl dipole), provoquée par l'hybridation *sp* de carbone et d'azote, et de la polarité de la double liaison du dipolarophile, il se forme un intermédiaire, le *N*-acyl-imminion, avec formation ultérieure de la deuxième liaison et cyclisation. Cette seconde liaison est possible en raison du changement d'hybridation de l'atome d'azote de *sp* en *sp*². Un angle est formé et ensuite la seconde approximation frontale des orbitales se produit, formant la seconde liaison sigma. Le mécanisme de réaction qui ne se produit pas dans une seule phase et qui passe par un intermédiaire est dit non concerté (SANTOS, 2003).

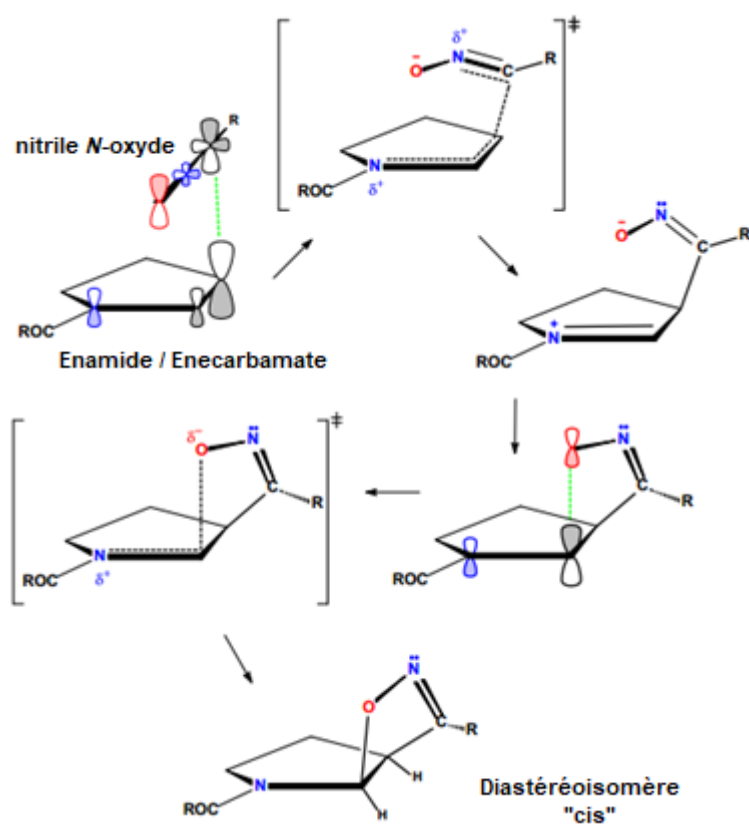
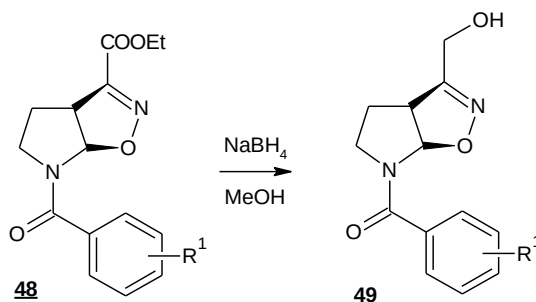


Figure 13. Mécanisme de cycloaddition 1,3-dipolaire proposé entre énamides ou énécarbammates endocycliques et nitrile *N*-oxyde CEFNO.

3.3.5- Synthèse des alcools d'isoxazoline **49a-g**



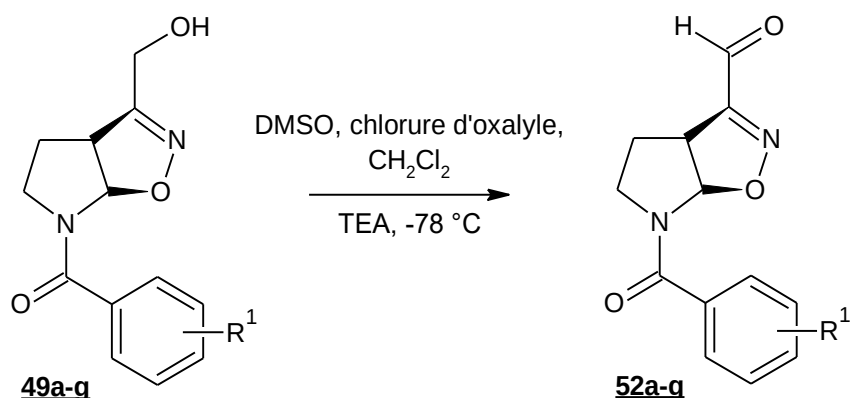
Les esters d'isoxazoline **48a-g** ont été réduits en utilisant NaBH_4 comme agent réducteur. L'objectif principal de cette réaction est d'obtenir davantage l'isoxazoline aldéhyde **52a-g**. Cependant, la réduction du fragment ester C3 directement sur la fonction aldéhyde ne s'est pas produite. Dans des travaux antérieurs du groupe de recherche, Reis et al (2011) ont découvert expérimentalement que la tentative de réduire la fonction ester C3 à la fonction aldéhyde en utilisant du DIBAL-H ou superhydride $[(\text{Et}_3\text{AlH})\text{Li}]$, des réducteurs faibles, n'avait d'effet. L'utilisation d'un réducteur plus fort ne serait pas idéale, comme LiAlH_4 , car cela réduirait également la fonction amide (à l'origine des énamides).

Au cours de la réduction de l'ester éthylique **48a-g**, la formation de l'ester méthylique a pu être vérifiée. En raison de la transestérification et de la qualité du borohydrure, également influencée par la durée de stockage, il est nécessaire d'ajouter un excès d'agent réducteur. Les alcools d'isoxazoline **49a-g** sont formés avec de bons rendements, comme indiqué dans le tableau 03.

Tableau 03. Rendements des réactions de réduction des esters d'isoxazoline **48a-g** en leurs alcools **49a-g**.

Alcools d'isoxazoline 49a-g	Rendements (%)
49a : <i>p</i> -Cl	65
49b : <i>p</i> -F	96
49c : <i>p</i> -OMe	87
49d : <i>p</i> -terc-butyl	86
49e : <i>p</i> -toluyl	72
49f : <i>p</i> -NO ₂	73
49g : <i>m</i> -NO ₂	62

3.3.6- Synthèse d'isoxazoline aldéhydes **52a-g**



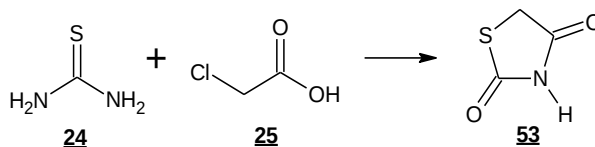
L'oxydation de Swern d'alcools d'isoxazoline **49a-g** s'est produite par l'action du DMSO, qui a été activé par le chlorure d'oxalyle, formant ainsi l'anion chloro-diméthylsulfonique. Après l'attaque nucléophile de l'alcool **49a-g** sur l'anion diméthylsulfonique chloré, il se forme un ion alcoxysulfonique qui, finalement, se forme par l'action de la base de triéthylamine, l'isoxazoline aldéhyde **52a-g**, avec formation de sous-produits de chlorure de triéthylammonium et de sulfure de diméthyle, qui possède forte odeur caractéristique (MANCUSO; HUANG; SWERN, 1978).

Lors de l'exécution des réactions d'oxydation de Swern, certaines difficultés ont été rencontrées, telles que le faible rendement et la dégradation des aldéhydes obtenus à partir de ces réactions. Cette méthodologie favorise l'obtention d'aldéhydes avec des rendements satisfaisants (REIS et al., 2011); Ainsi, le réactif chlorure d'oxalyle a été distillé sous une atmosphère inerte d'argon. Dans la synthèse de l'isoxazoline aldéhyde **50d**, la solution de DMSO n'a pas été ajoutée à la fois, ce qui a compromis le rendement, comme indiqué dans le tableau des rendements ci-dessous (tableau 04).

Tableau 04. Rendements obtenus lors de la synthèse des aldéhydes d'isoxazoline **50a-g**.

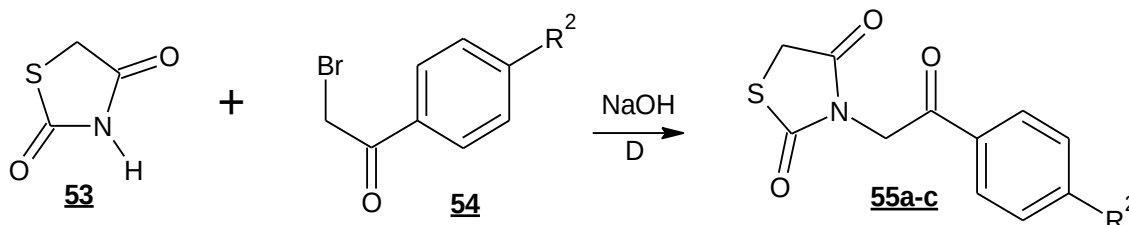
Aldéhydes d'isoxazoline 50a-g	Rendements (%)
50a : <i>p</i> -Cl	95
50b : <i>p</i> -F	96
50c : <i>p</i> -OMe	86
50d : <i>p</i> -terc-butyl	45
50e : <i>p</i> -toluil	70
50f : <i>p</i> -NO ₂	54
50g : <i>m</i> -NO ₂	70

3.3.7- Synthèse de la thiazolidine-2,4-dione **53**



La thiazolidine-2,4-dione a été synthétisée selon le processus utilisé par Mishra, Sachan et Chawla (2015). Un mélange aqueux contenant de la thiourée **24** et de l'acide monochloroacétique **25** a été chauffé au reflux pendant 25 heures. Sa faible solubilité dans l'eau permet une purification par recristallisation dans ce solvant. Les cristaux blancs obtenus ont été soumis à une analyse du point de fusion (PF) pour confirmer la synthèse. Parce que ses caractéristiques sont assez élucidées dans la littérature, le PF était la seule méthode utilisée pour vérifier son obtention. Le composé, la thiazolidine-2,4-dione **53**, peut également être trouvé dans le commerce, mais afin de réduire les coûts et d'avoir une méthodologie de synthèse facile, nous avons décidé de le synthétiser en laboratoire.

3.3.8- Synthèse de dérivés de thiazolidine-2,4dione *N*-acylés **55a-c**.



La thiazolidine-2,4-dione **53** a été *N*-alkylée avec de la 2-bromo ou de la 2-chloro acétophénone **54a-c**. Cette réaction a eu lieu dans un milieu basique en utilisant NaOH comme base au reflux. La formation du produit a été confirmée par sa caractérisation spectrométrique, comme le montre la figure 14. La présence des atomes d'hydrogène du cycle aromatique surlignés en rouge et en bleu. Les molécules **55a-c** ont chacune 8 atomes d'hydrogène, mais dans le spectre nous pouvons voir les 4 signaux en raison de la présence d'hydrogènes homotopes et énantiotopiques.

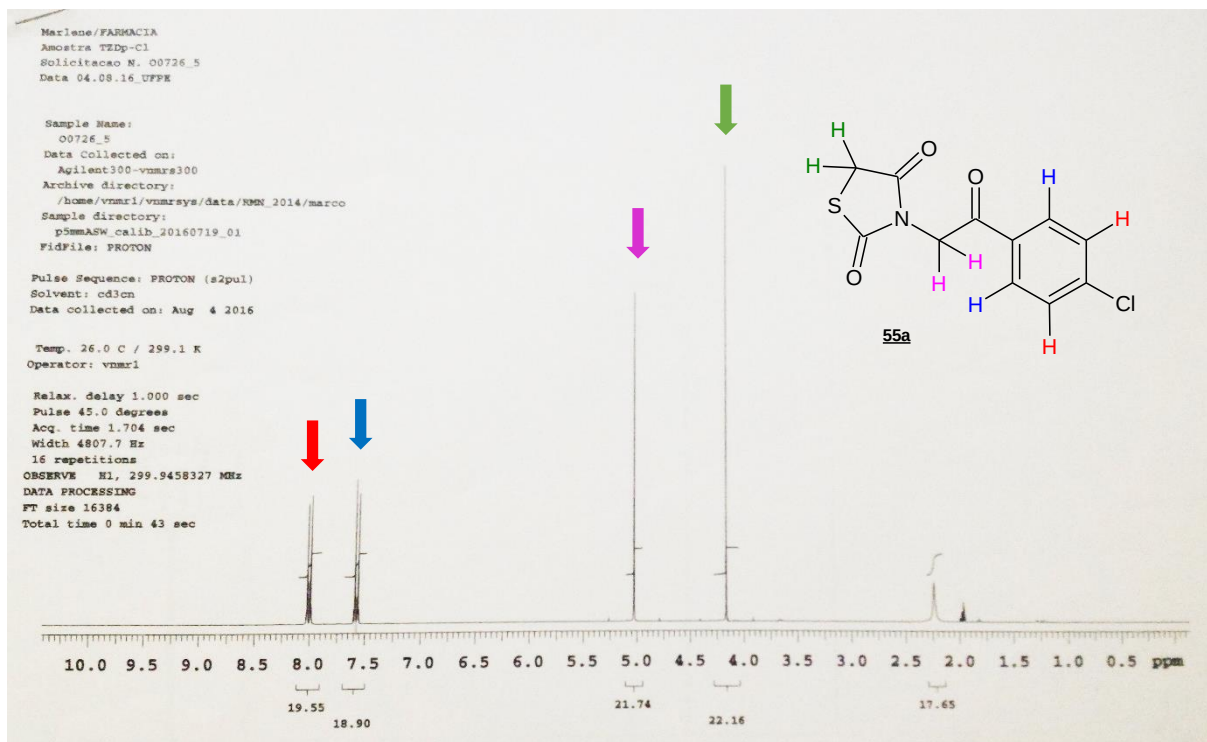
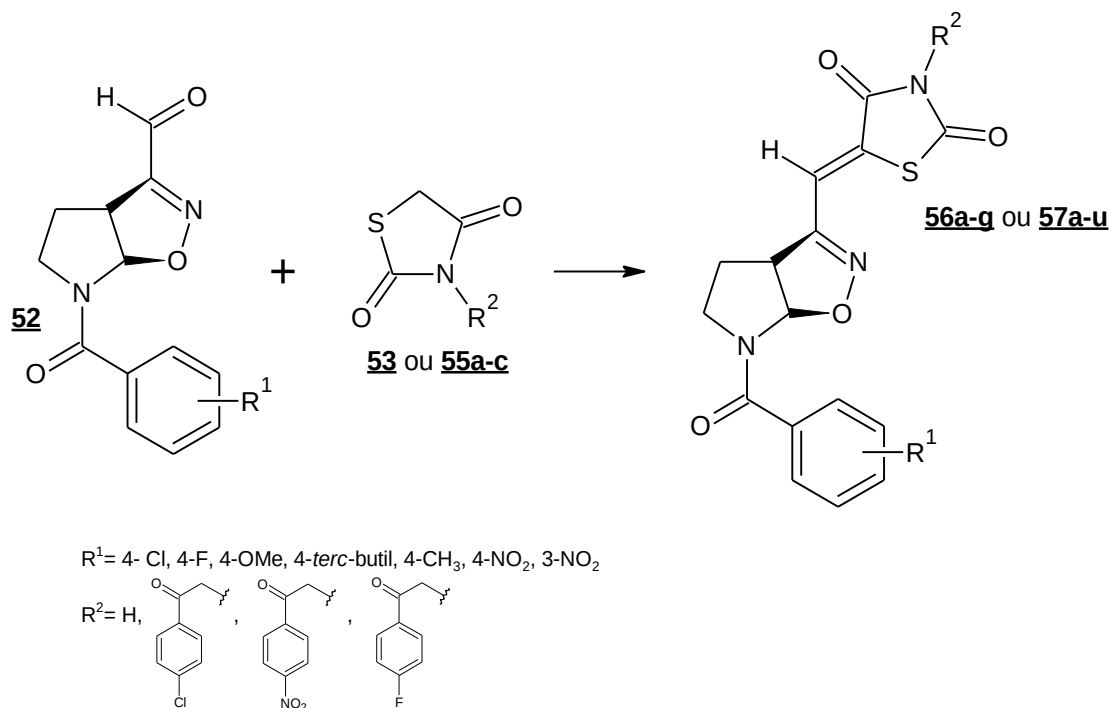


Figure 14. Spectre RMN ^1H de la thiazolidine-2,4-dione *N*-acylée **55a**.

3.3.9- Condensation de l'isoxazoline aldéhyde **52a-g** avec les thiazolidines-2,4-dione **53** et **55a-c**



La synthèse des composés finaux **56a-g** et **57a-u** proposés dans ce travail a été réalisée selon la méthodologie utilisée par Nastasa et al en 2013. Cette réaction

consiste en une réaction de condensation aldol, plus connue sous le nom de réaction de Knoevenagel. L'isoxazoline aldéhyde **52a-g** a été condensé avec les thiazolidine-2,4-dione **53** et **55a-g** et de l'acétate de sodium anhydre en tant que base et de l'acide acétique glacial en tant que solvant.

Initialement, un autre catalyseur a été testé. Nous avons utilisé la pipéridine et l'acétate de pipéridinium comme réactif et catalyseur, respectivement, et nous avons apporté des modifications avec les solvants, le THF et l'éthanol. Ces solvants ont été utilisés dans des réactions distinctes et les deux ont été préalablement séchés et distillés. Cette méthodologie a généré une plus grande quantité de sous-produits, même en 15 minutes, entraînant une purification plus difficile et plus coûteuse. En modifiant le réactif et le solvant en utilisant de l'acétate de sodium anhydre et de l'acide acétique glacial, nous avons obtenu une synthèse plus propre mais légèrement plus longue. Le temps de réaction moyen était de deux heures.

Dans la méthodologie utilisée dans ce travail, l'acétate de sodium anhydre a été utilisé en excès. Dans la condensation de Knoevenagel, une molécule d'eau est éliminée. Ce sel sert également de dessiccant, ce qui entraîne le transfert de l'équilibre en formation de produit. Le schéma 10 montre le mécanisme d'obtention des nouvelles molécules **56a-g** et **57a-u**, où il est possible de vérifier la sortie de la molécule d'eau et la formation de carbone, phénomènes présents dans ce type de réaction.

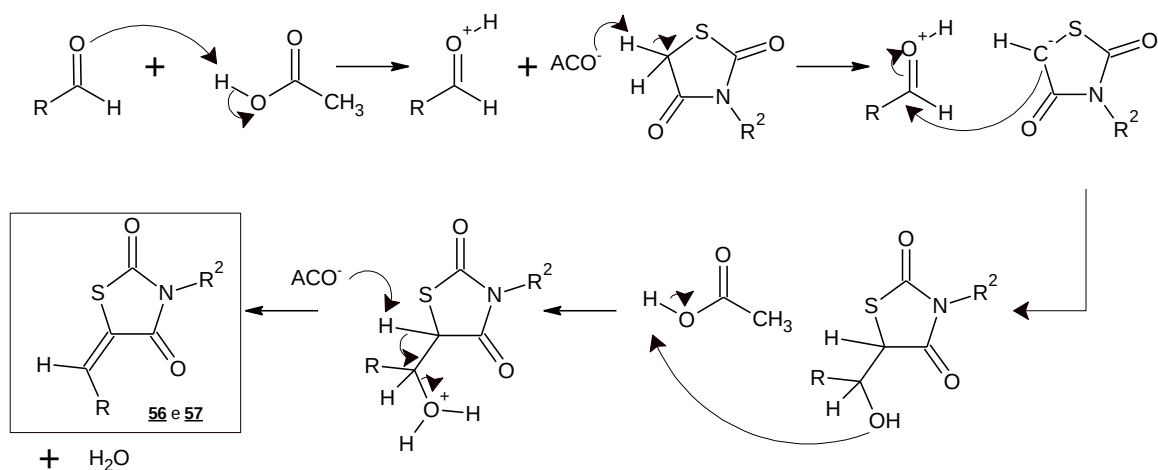


Schéma 10. Mécanisme possible de synthèse des nouveaux dérivés des isoxazolines-thiazolidine-2,4-dione **56a-g** et **57a-u** (condensation de Knoevenagel).

La purification des nouveaux produits a été réalisée par des lavages au solvant augmentant progressivement la polarité, si nécessaire. Les solvants utilisés étaient

principalement l'éthanol et le méthanol, et parfois aussi l'acétate d'éthyle. La purification a également été effectuée par chromatographie sur colonne « Flash », sans succès toutefois. Dans les deux lavages avec les solvants ci-dessus, dans certains cas ainsi qu'en chromatographie, la présence d'une impureté de couleur qui n'a pas pu être révélée persistait, en utilisant les révélateurs les plus courants en chromatographie en couche mince (ultraviolets, I₂ et acide phosphomolibdique). Par conséquent, nous avons envisagé la filtration sur charbon actif, mais il a été remarqué que ce réactif adsorbait également une partie du produit. Il était nécessaire de répéter les lavages dans certaines purifications. Tous les surnageants réservés ont éliminé le solvant et le solide résultant a été soumis au même processus de purification. Cela a été fait pour obtenir le rendement le plus élevé possible. Le tableau 05 montre toutes les valeurs de rendement des molécules finales **56a-g** et **57a-u**.

Tableau 05. Rendement obtenu dans la synthèse des nouvelles molécules hybrides d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione condensées avec de la thiazolidine-2,4-dione **53** et du dérivé de thiazolidine-2,4-dione **55a-c**.

Produits finaux	R ₁	R ₂	Rend. (%)	Produits finaux	R ₁	R ₂	Rend. (%)
56a	<i>p</i> -Cl	H	24	57h	<i>p</i> -OMe	-CH ₂ COC ₆ H ₄ NO ₂	54
56b	<i>p</i> -F	H	36	57i	<i>p</i> -OMe	-CH ₂ COC ₆ H ₄ F	55
56c	<i>p</i> -OMe	H	41	57j	<i>p</i> - <i>tert</i> -butyl	-CH ₂ COC ₆ H ₄ Cl	48
56d	<i>p</i> - <i>tert</i> -butyl	H	68	57k	<i>p</i> - <i>tert</i> -butyl	-CH ₂ COC ₆ H ₄ NO ₂	81
56e	<i>p</i> -CH ₃	H	41	57l	<i>p</i> - <i>tert</i> -butyl	-CH ₂ COC ₆ H ₄ F	63
56f	<i>p</i> -NO ₂	H	27	57m	<i>p</i> -CH ₃	-CH ₂ COC ₆ H ₄ Cl	53
56g	<i>m</i> -NO ₂	H	37	57n	<i>p</i> -CH ₃	-CH ₂ COC ₆ H ₄ NO ₂	78
57a	<i>p</i> -Cl	-CH ₂ COC ₆ H ₄ Cl	55	57o	<i>p</i> -CH ₃	-CH ₂ COC ₆ H ₄ F	67
57b	<i>p</i> -Cl	-CH ₂ COC ₆ H ₄ NO ₂	69	57p	<i>p</i> -NO ₂	-CH ₂ COC ₆ H ₄ Cl	38
57c	<i>p</i> -Cl	-CH ₂ COC ₆ H ₄ F	36	57q	<i>p</i> -NO ₂	-CH ₂ COC ₆ H ₄ NO ₂	30
57d	<i>p</i> -F	-CH ₂ COC ₆ H ₄ Cl	61	57r	<i>p</i> -NO ₂	-CH ₂ COC ₆ H ₄ F	50
57e	<i>p</i> -F	-CH ₂ COC ₆ H ₄ NO ₂	63	57s	<i>m</i> -NO ₂	-CH ₂ COC ₆ H ₄ Cl	61
57f	<i>p</i> -F	-CH ₂ COC ₆ H ₄ F	24	57t	<i>m</i> -NO ₂	-CH ₂ COC ₆ H ₄ NO ₂	75
57g	<i>p</i> -OMe	-CH ₂ COC ₆ H ₄ Cl	52	57u	<i>m</i> -NO ₂	-CH ₂ COC ₆ H ₄ F	44

Toutes les nouvelles molécules hybrides d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione **56a-g** et **57a-u** ont été caractérisées par RMN ¹H et ¹³C, par infrarouge-ATR et par spectres de masse, ainsi que leurs caractéristiques physico-chimiques déterminées. La figure 15 montre le spectre RMN de l'hydrogène de la nouvelle molécule hybride d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione **56d**. Nous pouvons voir des signaux qui

confirment la formation de cette molécule, comme le singulet à 12,66 ppm, s'intégrant à 1 hydrogène. Cet atome est directement lié à l'atome d'azote de la fraction thiazolidine-2,4-dione, son nuage d'électrons est très délocalisé, ce qui provoque son apparition dans le champ bas. Un autre atome d'hydrogène caractéristique de la formation de cette nouvelle molécule est l'hydrogène de vinyle, qui apparaît sous forme de singulet à 7,30 ppm et qui s'intègre également dans 1 hydrogène.

La figure 15 montre également les signaux d'autres atomes d'hydrogène présents dans la molécule, tels que ceux du cycle aromatique à 7,51 ppm. Les signaux des rotamères hydrogènes 6a de la jonction 2-isoxazoline azabicyclique apparaissent à 6,23 et 6,72 ppm, ce qui confirme la présence d'isoxazolines aza-bicycliques. Le signal pour les hydrogènes des 3 méthyles présents dans le groupe *tert*-butyle peut être visualisé à 1,30 ppm. Ce signal est présenté comme un singulet qui a une zone intégrale pour 9 hydrogènes.

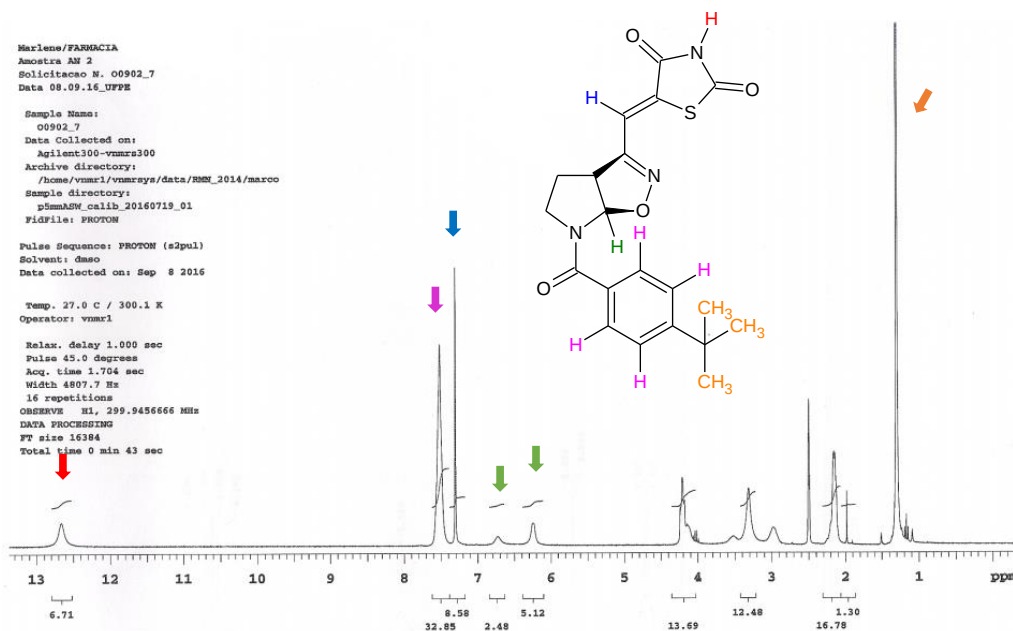


Figure 15. RMN ^1H d'une nouvelle molécule hybride d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione **56d**.

La nouvelle molécule hybride d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione **56d** a également été caractérisée par les spectres de RMN ^{13}C . Deux analyses ont été effectuées, ne modifiant que la température de l'expérience. Dans le spectre obtenu à 27 °C (Figure 16), il n'a pas été possible de visualiser tous les groupes carbonyle présents dans la molécule, cependant, dans le spectre obtenu à 65 °C (Figure 17), il est possible de voir deux signaux très proches à 168,49 et 168,16 ppm. Dans le

spectre obtenu à 27 °C, un seul signal pouvait être visualisé à 168,49 ppm avec une base large ; peut-être il y avait une coïncidence des signes. Dans le spectre RMN ^{13}C obtenu à 65 °C, nous n'avons observé qu'un signal coalescent à 94,47 ppm, ce qui correspond à un CH d'une jonction du cycle isoxazoline. Dans le spectre obtenu à une température plus basse, nous observons deux signaux pour le même carbone. Ce sont des signaux de rotamères du même carbone, détectés à deux moments différents. Ceci est dû à la faible vitesse de rotation du groupe carbamide. Lorsque la température augmente, la vitesse de rotation de ce groupe augmente, ce qui ne provoque l'apparition que d'un signal coalescent. Dans d'autres signaux de rotamères, leurs coalescences peuvent également être observées.

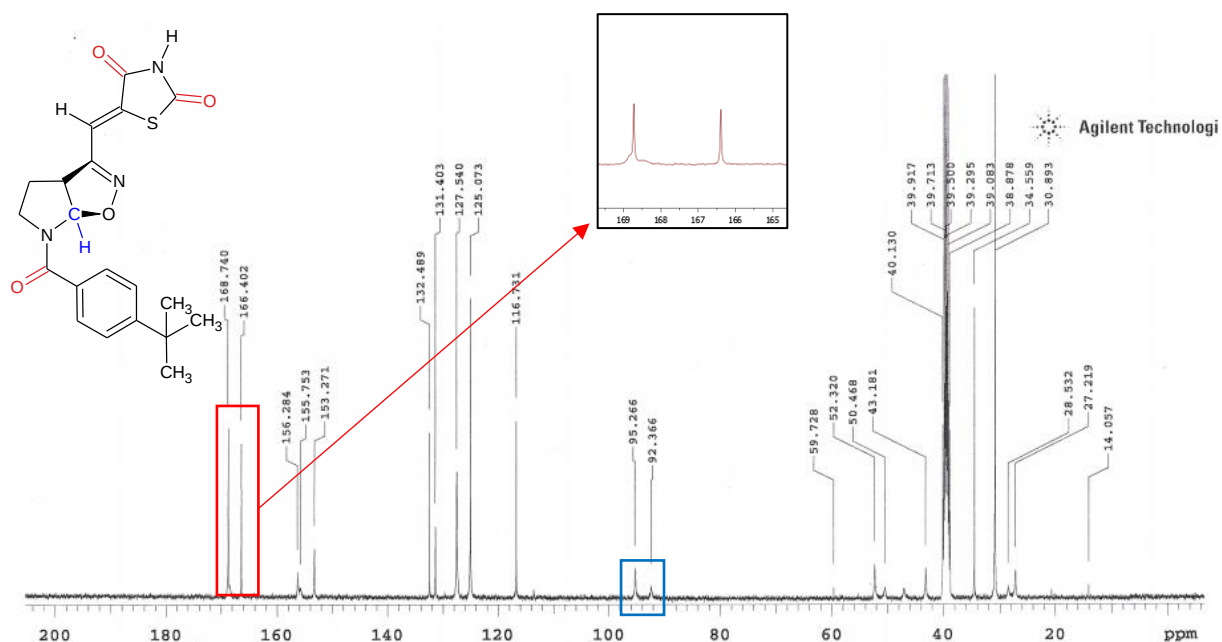


Figure 16. Spectre RMN ^{13}C de la molécule hybride d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione **56d** obtenue à 27 °C.

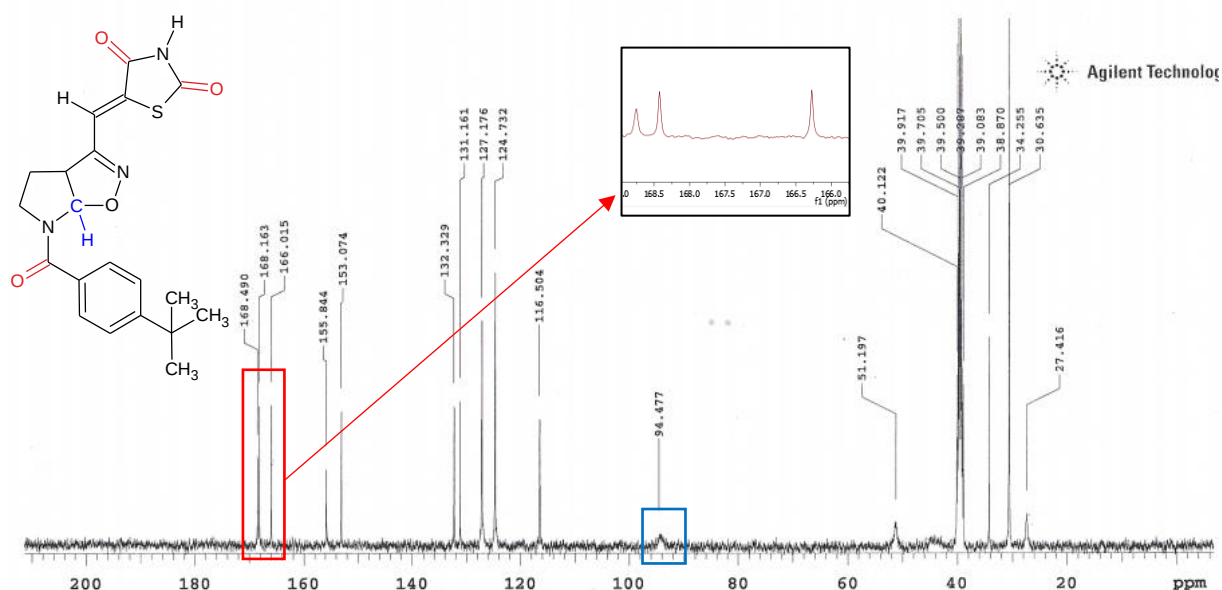


Figure 17. Spectre RMN ^{13}C de la molécule hybride d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione **56d** obtenue à 65 °C.

Les nouvelles molécules hybrides d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione **56a-g** et **57a-u** ont une isomérisation géométrique. Cette isomérisation est formée lors de la condensation de Knoevenagel et il existe plusieurs rapports dans la littérature (AVUPATI et al., 2012; RÉGO et al., 2014) selon lesquels il ne se forme que l'isomère Z. La synthèse des hybrides était accompagnée de CCM et de la même chose a été trouvée, la formation d'un seul isomère. Par conséquent, des études de spectroscopie RMN bidimensionnelle ont été effectuées pour prouver ce qui est rapporté dans la littérature pour notre système.

Le spectre RMN de corrélation bidimensionnelle HMBC de la molécule hybride isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione **56d** (Figure 18) montre la corrélation de l'hydrogène vinylique à 7,30 ppm et des atomes de carbone à 52,62 ppm, 155,99 ppm et 166,92 ppm. Ce dernier correspond à un carbone carbonyle. Cette corrélation apparaît dans le spectre de couplage maximal J^3 , de sorte que ce carbonyle appartient au noyau thiazolidine-2,4-dione. Compte tenu de ces résultats, un spectre de RMN ^{13}C couplé à l'hydrogène a été réalisé (Figure 19). Dans ce spectre, un doublet apparaît à 166,85 ppm (déplacement du carbone du noyau thiazolidine-2,4-dione). La constante de couplage J^3 trouvée était de 6,75 Hz. Cette valeur correspond à un couplage d'atomes dans l'isomérisation géométrique de type Z. Par conséquent, la formation de l'isomère comme décrit par la littérature pour des systèmes analogues, a été confirmée.

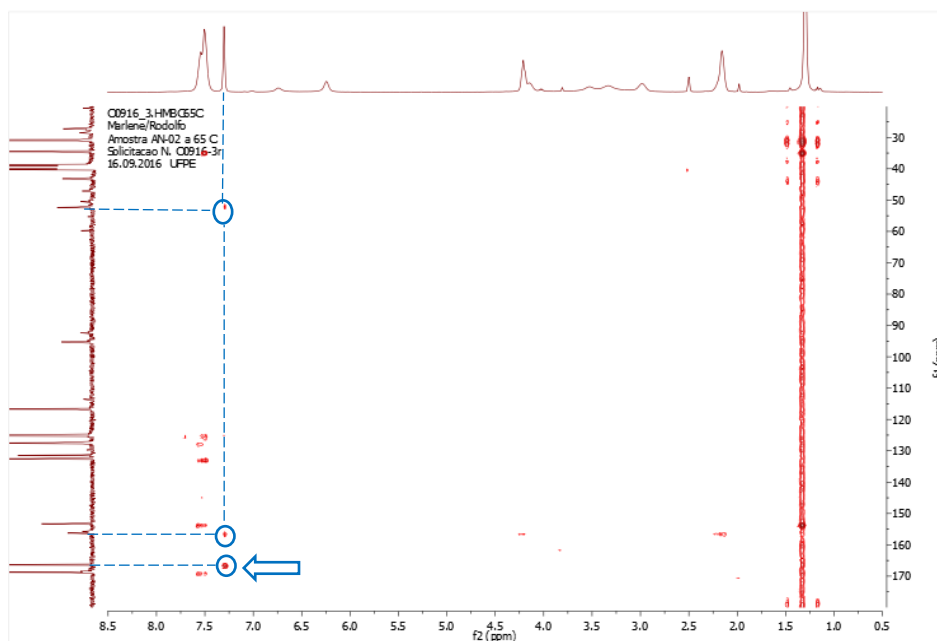


Figure 18. Spectre RMN de corrélation HMBC de la molécule hybride d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione **56d** obtenue à 65 °C.

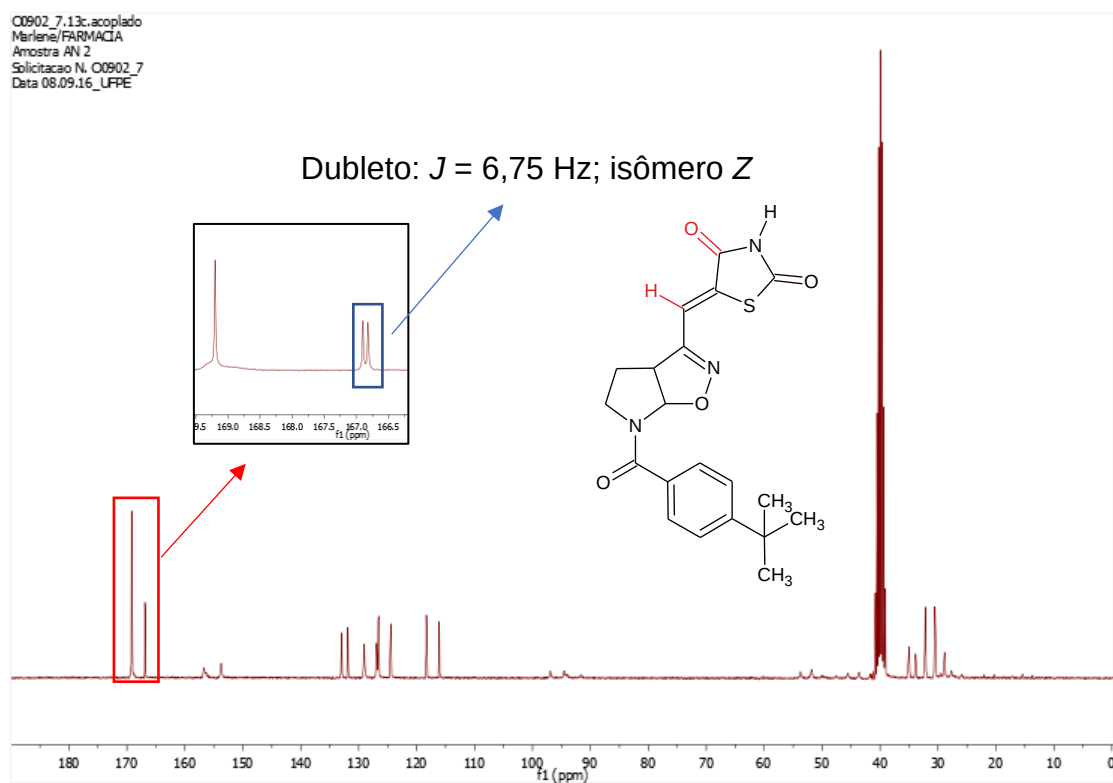


Figure 19. Spectre RMN ^{13}C couplé à ^1H de la molécule hybride d'isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione **56d** obtenue à 27 °C.

4- CHAPITRE 2 - SERIE 5,6,7,8-TETRAHYDROIMIDAZO[1,2-A]PYRAZINE

4.1- LES OBJECTIFS

4.1.1- Usage général

Synthétiser et évaluer l'activité trypanocide de nouveaux dérivés hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarbazones, 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone et 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidine-2,4-diones ainsi que l'étude de *docking* de ces molécules.

4.1.2- Objectifs spécifiques

- a. Synthèse de la série de nouveaux dérivés hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarbazones **75a-x**, 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone **77a,b** et 5 6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidine-2,4-diones **78a-r**.
- b. Purification et détermination des propriétés physicochimiques des nouvelles molécules obtenues.
- c. Élucidation structurelle de nouvelles molécules par Résonance Magnétique Nucléaire (^1H et ^{13}C), spectroscopie de masse et infrarouge.

4.2- METHODOLOGIE

Le schéma 11 représente la voie générique de synthèse des nouvelles molécules hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarbazone **75a-x**, 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone **77a,b** et 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidine-2,4-dione **78a-r**. Le produit de départ est la 2-aminopyrazine **58** qui réagit avec le ethyl bromopyruvate **59** ou le 2-chloro-3-éthoxy-3-oxoprop-1-in-1-olate de potassium **63** pour former le noyau imidazo[1,2-a]pyrazine avec le groupe ester en position 2 et 3 **64a,b**, respectivement. Ensuite, le noyau pyrazine a été réduit en utilisant le formiate d'ammonium et le Pd⁰ / C et le produit de cette réaction **65a,b** a subi une réaction de protection de l'atome d'azote par le groupe Boc. Ensuite, les molécules **67a,b** ont été réduites en groupe ester en utilisant NaBH₄ comme agent réducteur. Les alcools **68a,b** obtenus ont subi une réaction d'oxydation douce avec MnO₂, obtenant ainsi les aldéhydes **69a,b** ayant subi une réaction d'hydrolyse pour éliminer le groupe Boc, puis une *N*-benzoylation a été réalisée pour obtenir les aldéhydes respectifs 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazines **71a-f**. Ces aldéhydes ont été condensés avec des dérivés de thiosemicarbazide, donnant les molécules hybrides respectives 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarbazone **75a-x**. Pour la synthèse des dérivés hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone **77a,b**, les thiosemicarbazones **75a-x** ont subi une réaction de cyclisation avec le bromoacétate d'éthyle **76**. Enfin, les derniers dérivés synthétisés les 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidine-2,4-dione **78a-r** ont été obtenues par condensation de Knoevenagel entre les aldéhydes **71a-f** et la thiazolidine-2,4-dione **53** et dérivés **55a-c**.

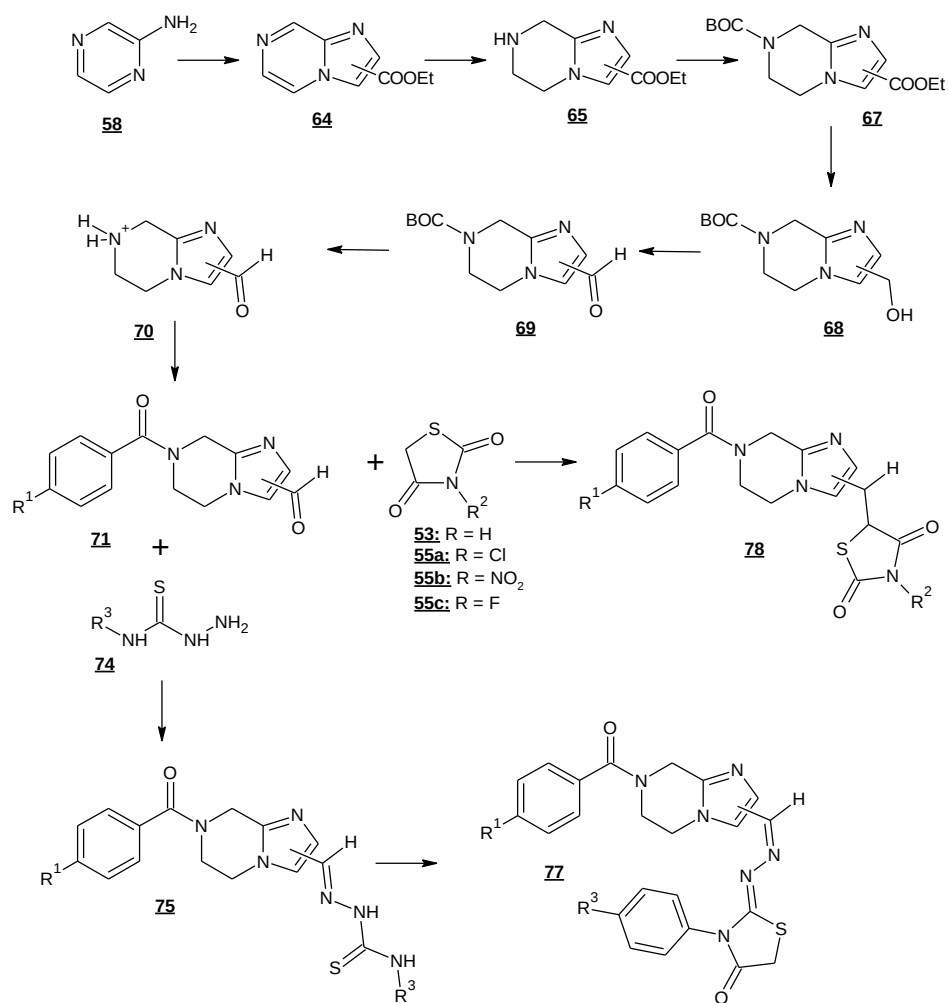


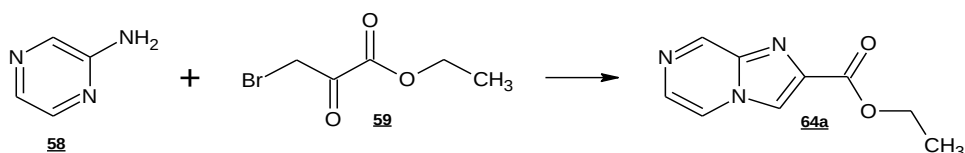
Schéma 11. Voie générique d'obtention de 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarbazone **75a-x**, 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone **77a,b** et de 5 dérivés hybrides 6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidine-2,4-dione **78a-r**

4.3- RESULTATS ET DISCUSSION

La voie de synthèse de ce travail a comme noyau le 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine modulé en positions 2 et 3. Les produits de départ l'imidazo[1,2-a]pyrazine-2-carboxylate **64a** et l'éthyl imidazo[1,2-a]pyrazine-3-carboxylate **64b** ont été synthétisés à partir de 2-aminopyrazine **58** et ont suivi les mêmes étapes dans la voie de synthèse pour obtenir les molécules finales **75**, **77** et **78**.

4.3.1- Obtention du noyau imidazo[1,2-a]pyrazine modulé en ester aux positions C2 et C3.

4.3.1.1- Obtention de l'imidazo[1,2-a]pyrazine-2-carboxylate d'éthyle **64a**



Le noyau imidazo[1,2-a]pyrazine peut être synthétisé de différentes manières, mais la procédure utilisée dans la synthèse du composé modulé en ester en position 3 (obtenant la molécule **64a**) était issue de la réaction entre la 2-aminopyrazine **58** et bromopyruvate d'éthyle **59**. Selon des études, ce dernier présente une bonne réactivité avec les composés α-halogénocarbonyl utilisés pour la synthèse de ce type de réaction (MCDONALD; PEESE, 2015).

Pour former le noyau imidazo[1,2-a]pyrazine, à partir des réactifs mentionnés ci-dessus, une imine intermédiaire est formée, suivie de la cyclisation et de l'élimination d'une molécule d'eau. Le mécanisme de réaction possible est décrit dans le schéma 12. La réaction se déroule initialement par une réaction de substitution nucléophile suivie d'une cyclisation intramoléculaire. Initialement, une alkylation avec élimination de HBr se produit et le produit intermédiaire **a** formé est protoné dans un milieu éthanolique, puis le processus de cyclisation intramoléculaire par échange d'hydrogène et l'élimination d'une molécule d'eau (RAO et al., 2018).

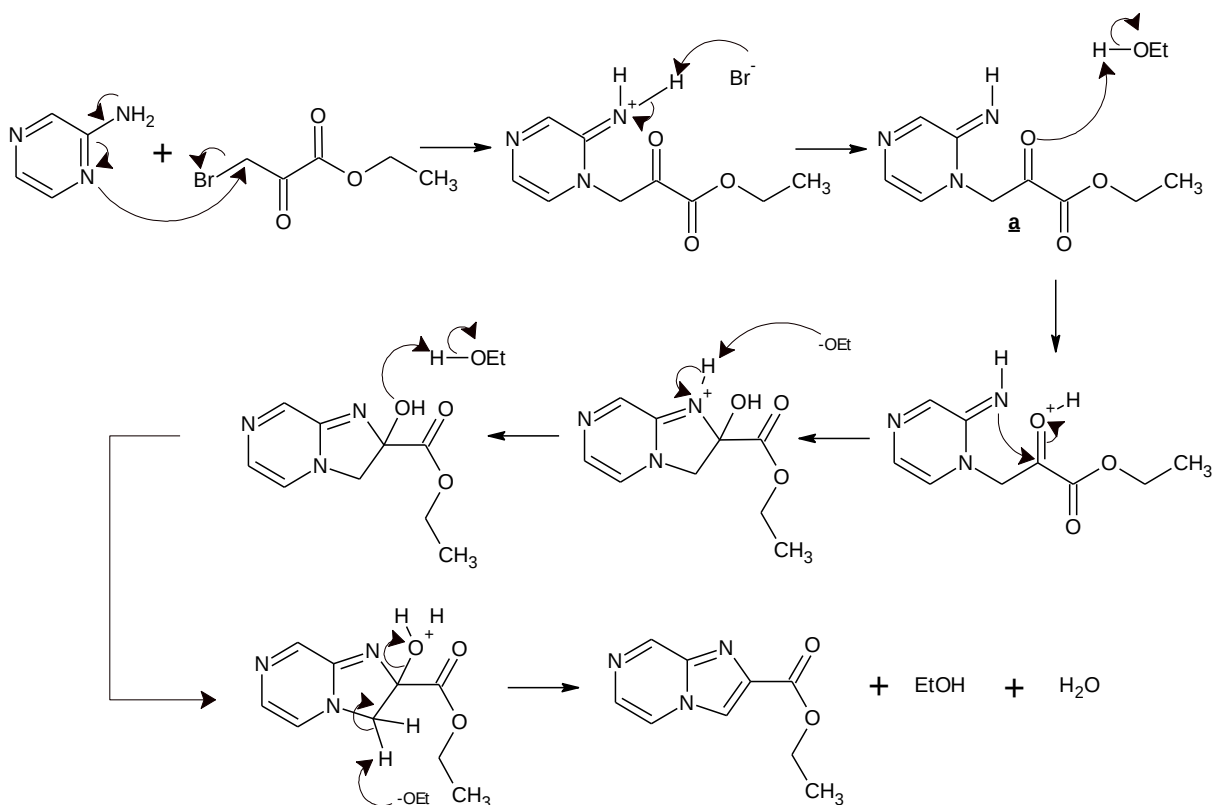


Schéma 12. Mécanisme réactionnel de la formation de l'imidazo[1,2-a]pyrazine-2-carboxylate d'éthyle **64a** à partir d'éthyl 2-aminopyrazine **58** et d'éthyl bromopyruvate **59**.

4.3.1.2- Obtention de l'imidazo[1,2-a]pyrazine-3-carboxylate d'éthyle **64b**

L'objectif initial de la modélisation de la série en C3 était d'obtenir la fonctionnalité aldéhyde directe. Certaines procédures ont été suivies à cette fin. La première tentative a eu lieu par la réaction de formylation de Vilsmeier-Haak à partir d'imidazo[1,2-a]pyrazine et de DMF (Schéma 13), car la position C3 par résonance de la molécule est une région très riche en électrons. et idéal pour les remplacements. Cependant, la formation attendue du produit n'a pas été observée par analyse UPLC-MS.

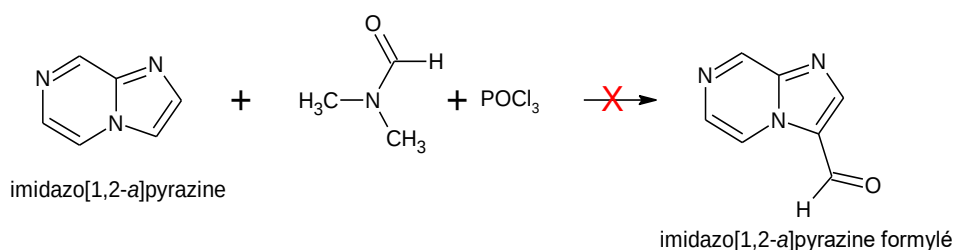


Schéma 13. Schéma de réaction de Vilsmeier-Haak de l'imidazo[1,2-a]pyrazine.

La deuxième stratégie (schéma 14) utilisée pour arriver à l'imidazo[1,2-a]pyrazine avec la fonction aldéhyde en C3 provenait de l'iodation de l'imidazo[1,2-a]pyrazine suivie de la cyanuration pour obtenir la nitrile en position C3. Ce produit a subi une réaction de réduction avec DIBAL-H donnant lieu à la fonction aldéhyde en cette position. Cependant, nous avons conclu qu'il ne s'agissait pas d'une voie de synthèse favorable compte tenu des très faibles rendements vérifiés par UPLC-MS.

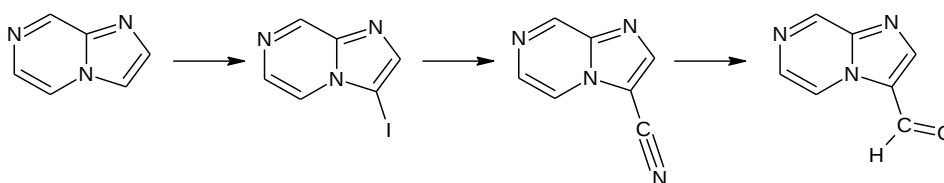


Schéma 14. Schéma général d'obtention de l'imidazo[1,2-a]pyrazine avec l'aldéhyde en C3 à partir de la réaction consistant à obtenir un nitrile dans la même position et à le réduire avec DIBAL-H.

La synthèse de la molécule **64b** a été réalisée en faisant réagir du 2-chloro-3-éthoxy-3-oxoprop-1-én-1-olate de potassium **63** avec de la 2-aminopyrazine **58** (schéma 15). Le sel de potassium a été préalablement synthétisé à partir d'une réaction entre le formiate d'éthyle **60**, de *tert*-butoxyde de potassium **61** et de 2-chloroacétate d'éthyle **62**. La réaction est similaire au mécanisme proposé pour la formation d'imidazo[1,2-a]pyrazine-2-carboxylate d'éthyle **64a** présent dans le schéma 12 (SAXTY et al., 2015).

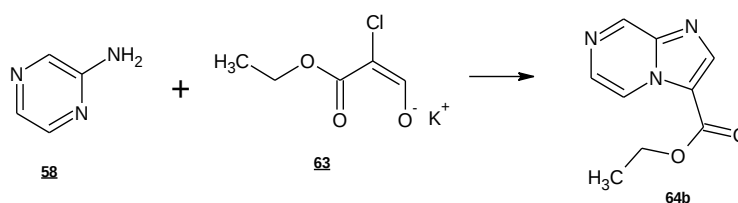
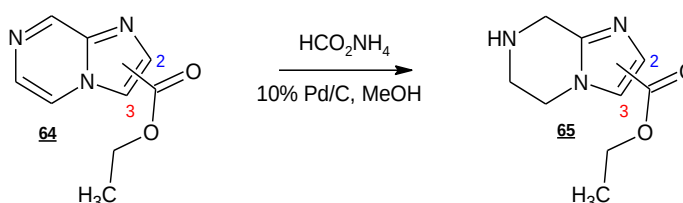


Schéma 15. Schéma général d'obtention de l'imidazo[1,2-a]pyrazine-3-carboxylate d'éthyle **64b**.

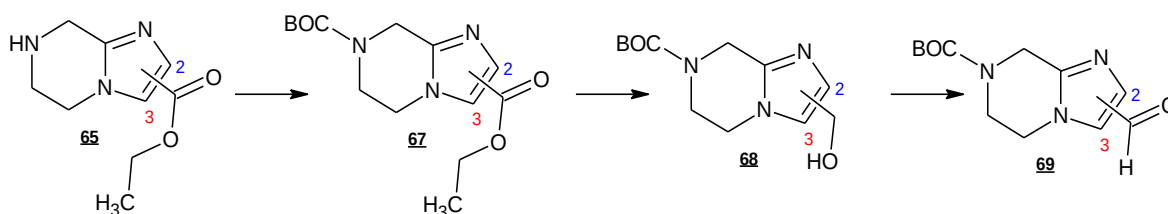
4.3.2- Réduction du noyau d'imidazole de l'imidazo[1,2-a]pyrazine-2-carboxylate d'éthyle **64a** et de l'imidazo[1,2-a]pyrazine-3-carboxylate d'éthyle **64b**



Les molécules **64a** et **64b** ont subi une réduction de la double liaison du fragment pyrazine catalysé par le palladium. Le formiate d'ammonium a été utilisé comme agent catalytique de transfert d'hydrogène. Dans ces conditions, de l'hydrogène se forme *in situ*. Cette procédure est largement utilisée pour les réductions de groupe nitro au groupe amine. Cependant, une certaine sélectivité dans la réduction des composés a été constatée, la réduction préférentielle des liaisons carbone-azote étant comparée aux molécules possédant également des liaisons carbone-oxygène (GAVARA et al., 2010; RAM; EHRENKAUFER, 1984).

Comme décrit dans la littérature, les rendements obtenus dans cette réaction étaient très significatifs, supérieurs à 93%, quelle que soit la position de modulation de la molécule. Cependant, dans ce cas, l'idéal est l'utilisation rapide du produit réduit en raison de l'instabilité de la molécule, probablement en raison de la présence d'azote non protégé dans la partie pyrazine.

4.3.3- Obtention des aldéhydes en C2 et C3: Synthèse de 2-formyl-5,6-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazine-7(8H)-carboxylate de *tert*-butyle **69a** et de 3-formyl-5,6 de *tert*-butyle-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazine-7(8H)-carboxylate **69b**



La prochaine étape de la voie de synthèse était la protection de l'amine N7 par le groupe protecteur Boc. Le di-*tert*-butyldicarbonate **66** ou anhydride de Boc est un groupe protecteur largement utilisé pour les réactions de protection d'amine. Ce regroupement confère aux molécules une plus grande stabilité, favorisant ainsi la continuité de la voie de synthèse et est également facilement éliminé par hydrolyse. Cette réaction est facile à réaliser et a été traitée dans un environnement anhydre sous atmosphère d'azote, avec de la triéthylamine comme base et du dichlorométhane anhydre comme solvant.

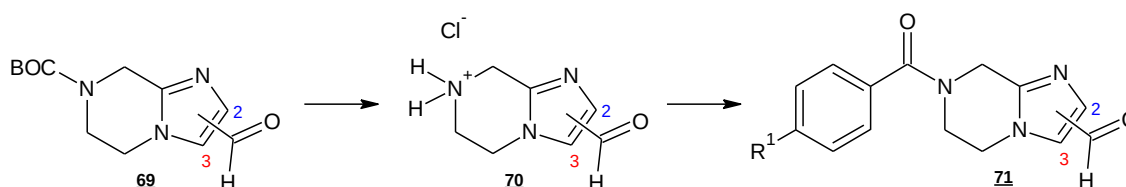
Ensuite, les composés **64a,b** ont été réduits avec du LiAlH₄ dans du THF, puis les alcools obtenus ont été légèrement oxydés avec du MnO₂, puis les aldéhydes

69a,b ont finalement été obtenus. Quelques tentatives visant à réduire directement la fonction ester (composés **67a,b**) directement à la fonction aldéhyde (composés **69a,b**) en utilisant DIBAL-H ont été faites, mais aucun succès n'a été obtenu. Les rendements respectifs d'obtention des composés décrits ci-dessus sont présentés dans le tableau 06.

Tableau 06. Rendements des composés **67**, **68** et **69**.

Composés	Modulation en position 2 (série a)	Modulation en position 3 (série b)
67	91%	86%
68	80%	87%
69	81%	85%

4.3.4- Obtention de dérivés de *N*-benzoyle aldéhyde **71a-f**



Après avoir obtenu la fonction aldéhyde en C2 ou C3, la prochaine étape de la voie de synthèse était la déprotection de N7. L'élimination du groupe Boc a été réalisée par hydrolyse acide en utilisant une solution de 1 mol.L⁻¹ HCl dans du dioxanne ayant du dichlorométhane et du méthanol comme solvants de réaction (VENKATESAN et al., 2006). La réaction s'est déroulée sous chauffage et le rendement n'a pas pu être déterminé car le chlorhydrate **70a,b** formé n'était ni isolé ni détecté par UPLC-MS.

Pour la formation de *N*-benzoyle aldéhydes **71a-f**, le composé **70a,b** a été mis à réagir avec des chlorures de benzoyle *para*-substitués dans un milieu anhydre, avec le solvant diméthylformamide (DMF) et de la triéthylamine (TEA) comme base. La réaction s'est produite à la température ambiante et pendant 30 minutes. La purification a été effectuée par chromatographie *flash* automatique.

Tous les dérivés **71a-f** ont été correctement identifiés et leur formation confirmée par spectres. Sur la figure 20, correspondant au spectre de résonance magnétique nucléaire ¹H de la molécule **71f**, il est possible de vérifier la présence de certains pics caractéristiques qui confirment son obtention. Le pic qui apparaît à 3,81 ppm correspond à l'atome d'hydrogène méthyle de la portion benzoyle, il est également possible de vérifier les deux doublets se rapportant aux atomes

d'hydrogène appartenant au cycle aromatique *para*-substitués à 7,02 ppm et 7,49 ppm. À 7,90 ppm, il est possible de vérifier la présence d'hydrogène dans la région aromatique, ce qui correspond à l'hydrogène de la portion d'imidazolidine, et à 9,79 ppm, il est possible de vérifier la présence d'un hydrogène très débloqué qui correspond à l'atome d'hydrogène de la fonction aldéhyde.

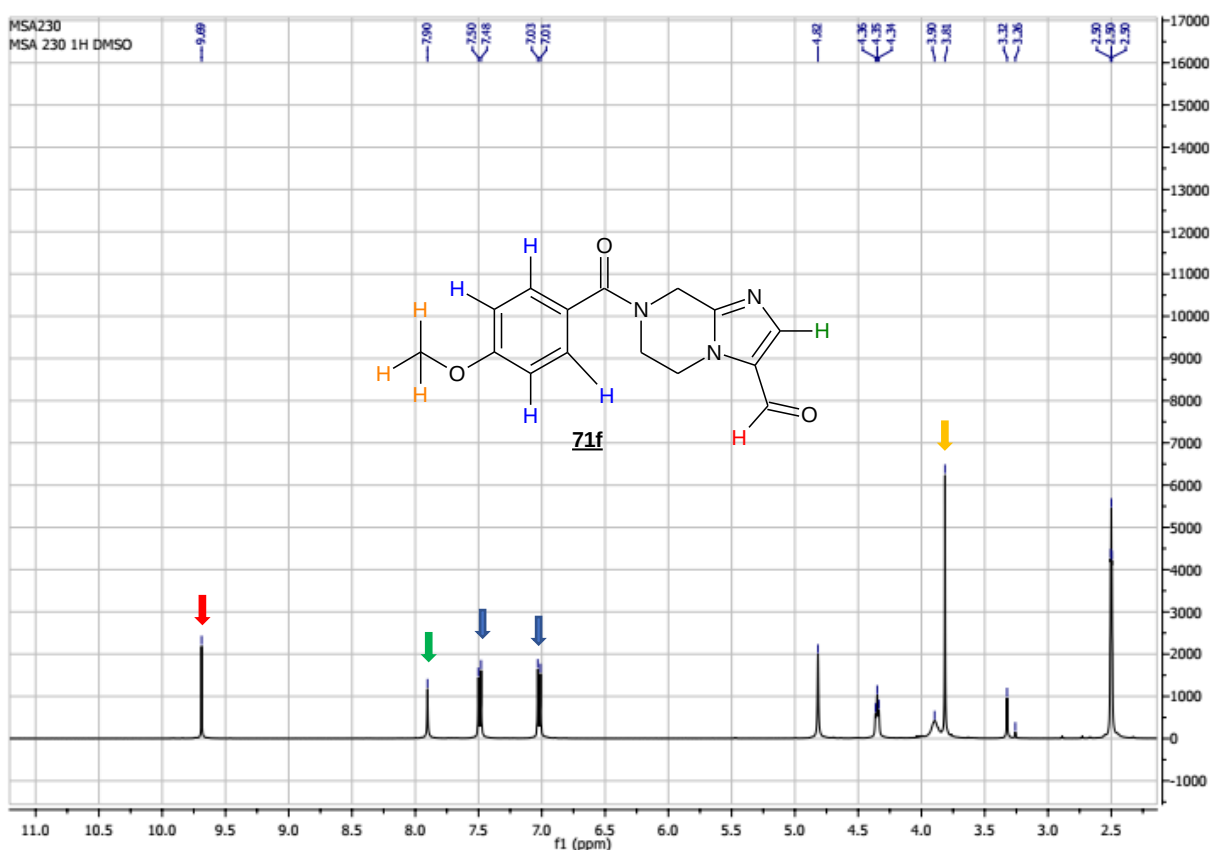


Figure 20. Spectre RMN ^1H de la molécule **71f** obtenue dans le solvant DMSO- d_6 .

La figure 21 montre le spectre RMN ^{13}C de la molécule **71f** et, comme dans le spectre RMN ^1H , il est possible de vérifier les pics correspondant aux atomes de carbone présents dans la molécule, dont certains sont mis en évidence par les couleurs. À 55,25 ppm, il est possible de vérifier le pic correspondant au carbone du méthoxy lié en position *para* du noyau aromatique. Les pics correspondant aux 4 atomes de carbone détachés du cycle aromatique sont également évidents à 113,76 ppm et 129,26 ppm. Dans ce cas, seuls 2 pics sont visualisés mais correspondent aux carbones aromatiques équivalents. Dans une région de carbones largement débloqué, les pics à 169,64 ppm et 179,49 ppm correspondent respectivement aux caraboniles à fonction amide et aldéhyde présents dans cette molécule.

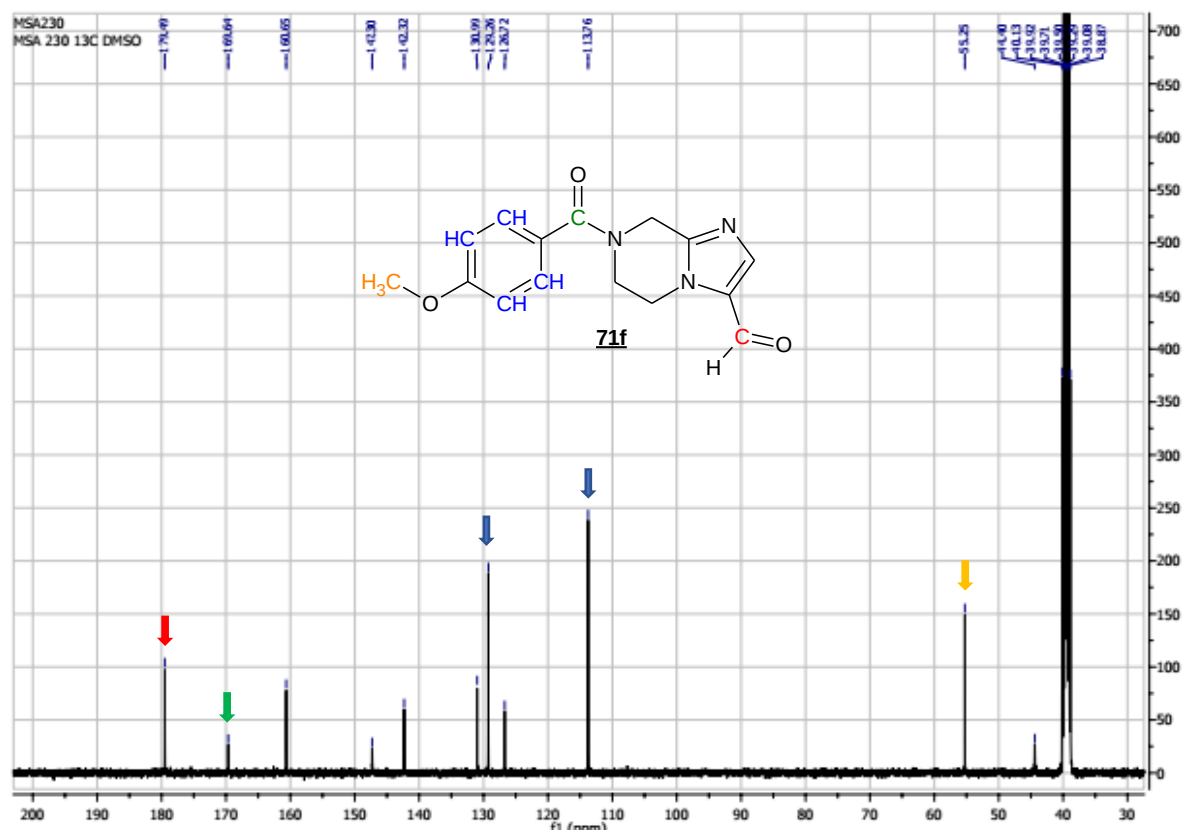
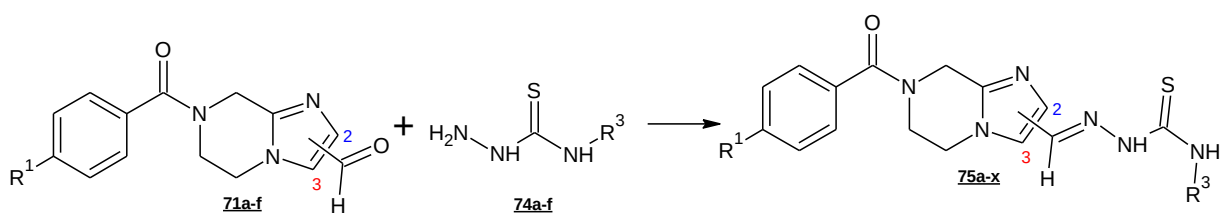


Figure 21. Spectre RMN ^{13}C de la molécule **71f** obtenue dans le solvant DMSO- d_6 .

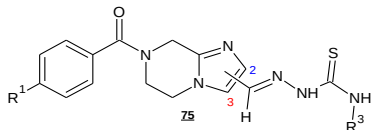
4.3.5- Condensation de *N*-benzoyl aldéhydes **71a-f** avec les thiosemicarbazides **74a-f** : Obtention de molécules hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-*a*]pyrazine / thiosemicarabazone **75a-x**.



Les nouvelles molécules hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-*a*]pyrazine / thiosemicarabazone **75a-x** ont été synthétisées à partir de la réaction de condensation par catalyse acide entre les dérivés d'aldéhyde *N*-benzoylé **71a-f** avec les thiosemicarbazides **74a-f**. Ces derniers ont été synthétisés à partir de la réaction entre les phénylthiocyanates correspondants **72** et l'hydrazine **73**. La réaction a été effectuée en milieu éthanolique et à température ambiante. Tous les produits obtenus sont solides et ont été purifiés par lavage du filtrat avec de l'éthanol et / ou du méthanol.

Les rendements obtenus étaient assez satisfaisants et sont présentés dans le tableau 07.

Tableau 07. Rendement de l'obtention de nouvelles molécules hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarabazone **75a-x**.

Composés 75	R ¹	R ²	Code	Rend. (posição 2)	Code	Rend. (posição 3)
	NO ₂	H	75a	60%	75m	99%
		Ph	75b	88%	75n	71%
		4-Cl-Ph	75c	73%	75o	89%
		4-F-Ph	75d	73%	75p	88%
		4-OMe-Ph	75e	93%	75q	92%
		4-NO ₂ -Ph	75f	87%	75r	94%
	F	H	75g	87%	75s	81%
		Ph	75h	82%	75t	80%
		4-Cl-Ph	75i	83%	75u	23%
		4-F-Ph	75j	64%	75v	88%
		4-OMe-Ph	75k	86%	75w	86%
		4-NO ₂ -Ph	75l	93%	75x	76%

La réaction de condensation entre les aldéhydes et les thiosemicarbazides en thiosemicarbazones est classique en chimie organique. La catalyse acide permet à la réaction de se dérouler plus rapidement du fait de la protonation de l'aldéhyde carbonyle favorisant l'attaque de l'amine terminale libre de la fonction thiosemicarbazine (nucléophile), en fin de compte en éliminant une molécule d'eau. Dans la molécule de thiosemicarbazone, il y a présence d'isomérisation géométrique, ce qui signifie qu'il peut y avoir formation d'isomères *Z* ou *E*. Des études ont montré que cela est assez variable. Le groupement chimique lié à la fonctionnalité thiosemicarbazone peut influencer l'isomère formé préférentiellement et il peut également y avoir une isomérisation de ces molécules lorsqu'elles sont en solution (ESPÍNDOLA et al., 2015; MARKOVIĆ et al., 2014; TEMPERINI; DOS SANTOS; PAOLI MONTEIRO, 1995).

Tous les dérivés hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarabazone **75a-x** ont été identifiés par spectrométrie de RMN ¹H et ¹³C, ainsi que par une analyse de masse et infrarouge. La figure 22 montre le spectre RMN ¹H de la molécule **75v** et il est possible de vérifier qu'il y avait effectivement formation de la molécule visée par la présence d'hydrogènes aromatiques (en bleu), la présence des hydrogènes présents dans le noyau 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine (orange et vert), l'hydrogène vinylique de la jonction des deux noyaux (vert) et l'hydrogène lié à la fonction thiosemicarbazone (rouge). Le spectre de masse à haute

résolution a également confirmé la masse de la molécule hybride **75v** avec une marge d'erreur de seulement 5 parties par million (ppm) (Figure 23).

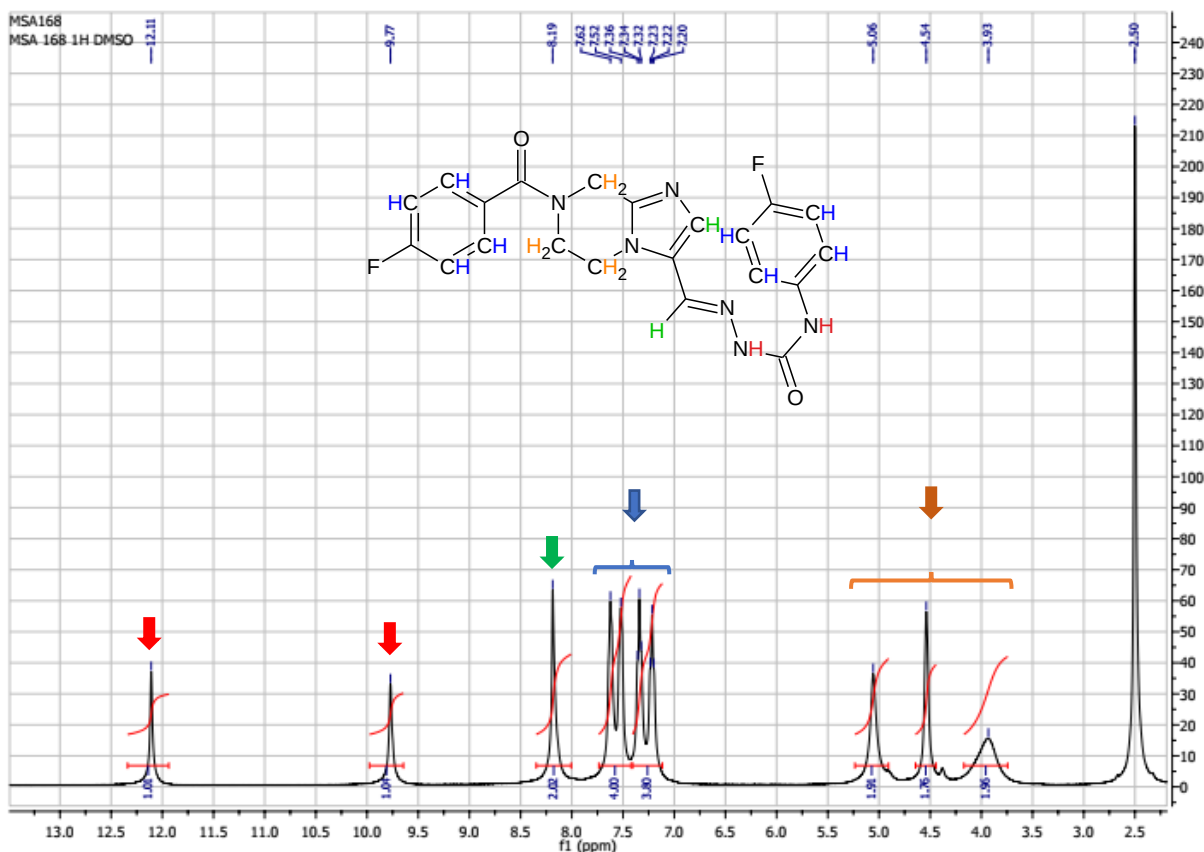


Figure 22. Spectre RMN ^1H de la molécule **75v** obtenue dans le solvant DMSO- d_6 .

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	0	300	O	2	0	15	Cl	1	0	10	H
C	4	0	100	F	1	0	10					
N	3	0	15	S	2	0	10					

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: all

MSn Iso RI (%): 75.00

DBE Range: -2.0 - 1000.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both

Use MSn Info: no

Isotope Res: 10000

Max Results: 100

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 0.180 -> 0.247 - 1.673 -> 2.500 Scan#: 55 -> 75 - 503 -> 751

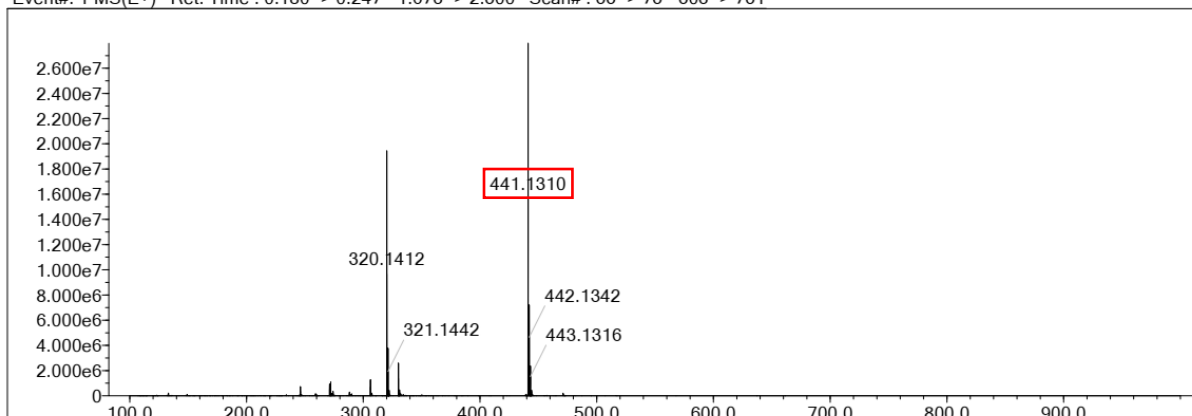


Figure 23. Spectre de masse HR-ESI-MS (UFLC-MS (IT-TOF)) du composé **75v**.

Comme dans les figures précédentes, dans le spectre de RMN ^{13}C du composé **75v** (figure 24), certains pics de diagnostic qui confirment la structure de la molécule peuvent être observés. À 45,25 ppm et 142,42 ppm, mis en évidence en rose, apparaissent des atomes de carbone qui sont présents dans la structure centrale du noyau imidazo[1,2-a]pyrazine. Cette molécule a deux cycles aromatiques substitués par l'atome de fluor en position *para*. Les couplages carbone-fluor en double doivent donc être vus. Dans ce cas, entre 114,67 ppm et 115,69 ppm, il existe deux doublets faisant référence au couplage J_3 avec les constantes 22 Hz et 23 Hz. Il est également possible de voir le couplage fort J_1 carbone-fluor par la présence des deux doubles entre 158,58 ppm et 164,26 ppm avec les constantes 241 Hz et 246 Hz. À 131,21 ppm il est possible caractériser la présence de carbone vinylique "CH" qui fait partie de la jonction 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine avec la fonctionnalité thiosemicarbazone. Les pics de diagnostic à 168,74 ppm et 176,52 ppm caractérisent la présence, respectivement, de la fonctionnalité carbonyle de l'amide et la thionyle de la fonctionnalité thiosemicarbazone.

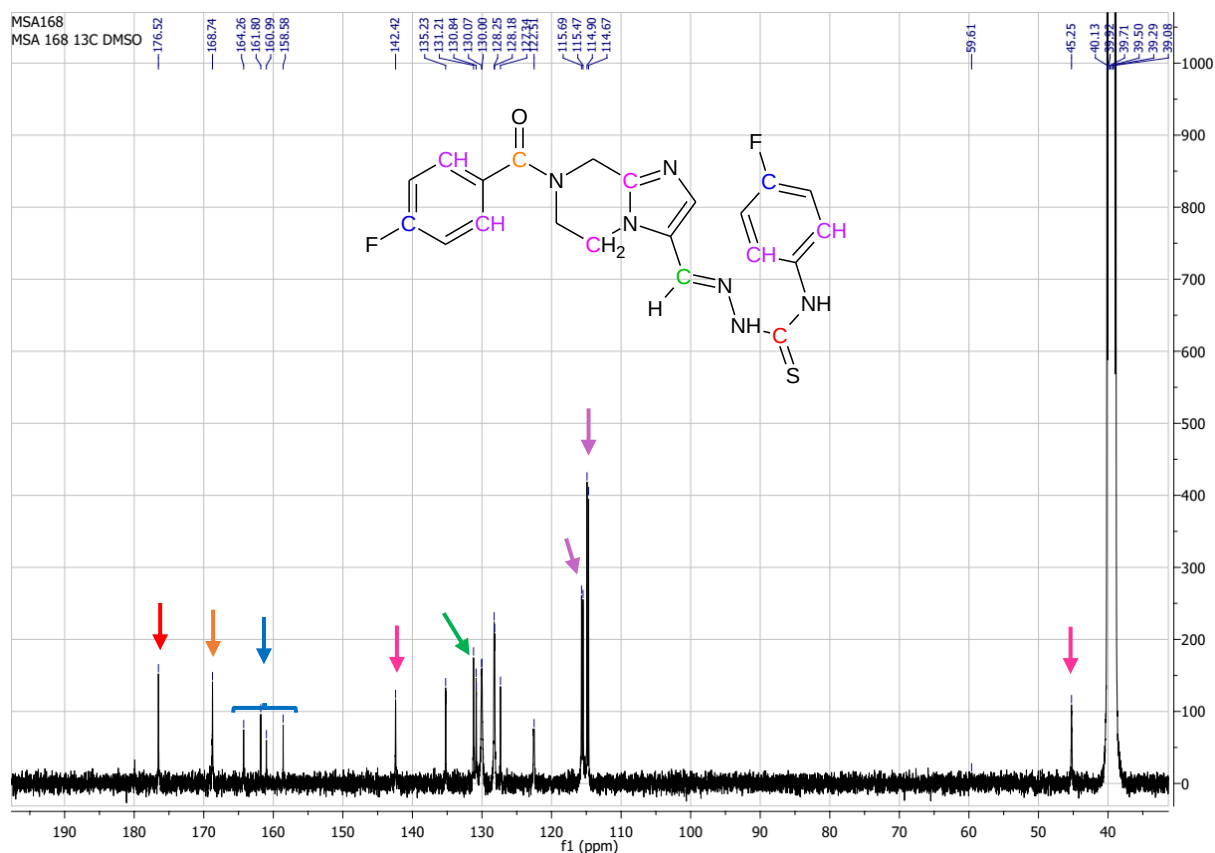
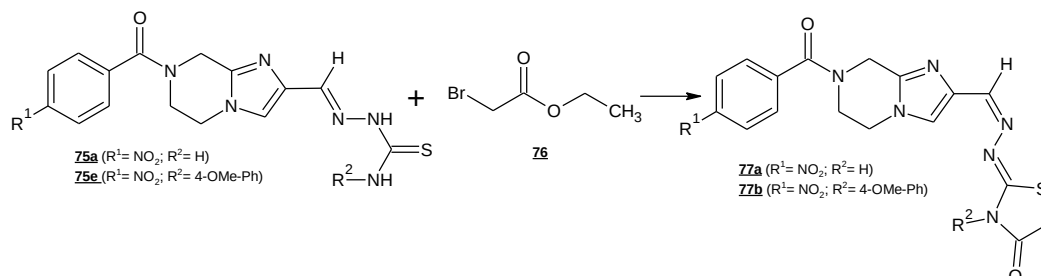


Figure 24. Spectre RMN ^{13}C de la molécule **75v** obtenue dans le solvant DMSO- d_6 .

4.3.6- Cyclisation des dérivés de thiosemicarbazone **75a,b** : Obtention de dérivés hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone **77a,b**



La synthèse de ces composés a été réalisée par cyclisation de dérivés de thiosemicarbazone **75** avec du bromoacétate d'éthyle **76** en milieu éthanolique en utilisant de l'acétate de sodium anhydre comme base à la température ambiante, procédure déjà décrite dans la littérature (BENMOHAMMED et al., 2014). De bons rendements ont été obtenus (tableau 08). Le mécanisme de synthèse (schéma 16) consiste initialement en la rémotion de l'hydrogène lié à *N2* avec délocalisation électronique et formation d'un thio-anion. Cela réagit directement avec le carbon- α du bromoacétate d'éthyle en libérant la base bromure dans le milieu réactionnel. La prochaine étape est la cyclisation de l'intermédiaire neutre formé, puis la base acétate, présente dans le milieu, enlève le proton de l'azote qui a une charge formelle +1, donnant naissance au noyau thiazolidinone.

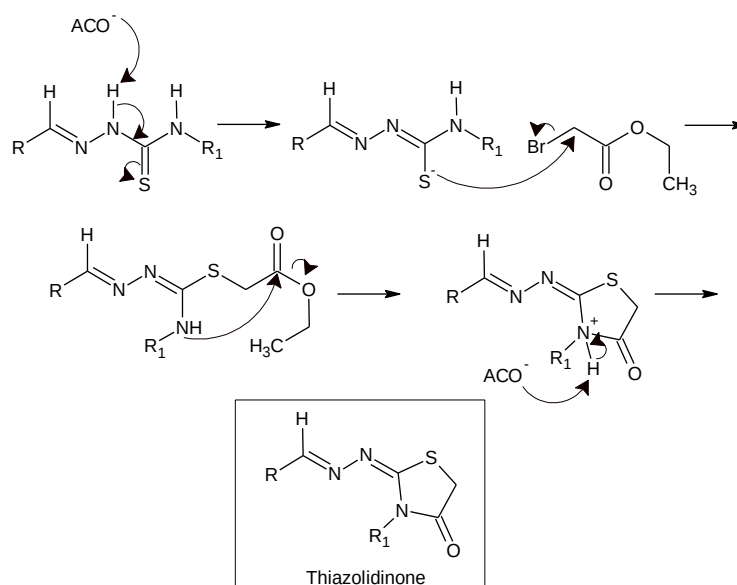
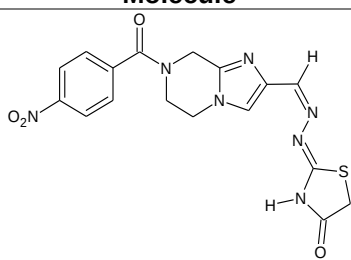
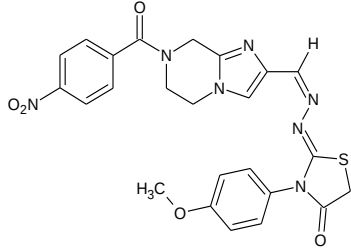
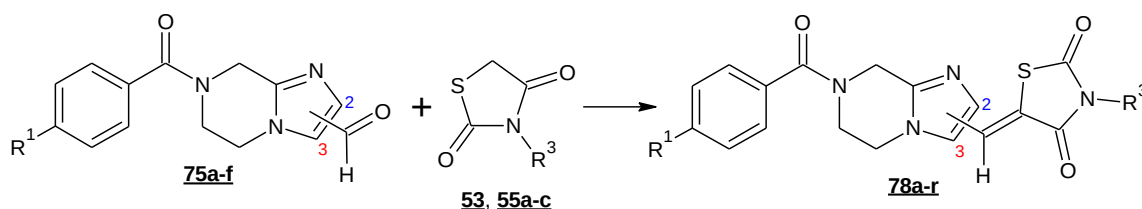


Schéma 16. Mécanisme de synthèse du noyau thiazolidinone à partir de la réaction du dérivé de thiosemicarbazone correspondant avec le bromoacétate d'éthyle.

Tableau 08. Résultats de l'obtention de nouveaux dérivés hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone **77**.

Code	Molécule	Rendement %
77a		63%
77b		42%

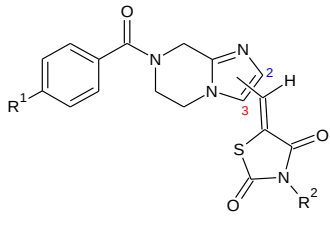
4.3.7- Condensation de Knoevenagel : Synthèse de dérivés de 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidine-2,4-dione **78a-r**



La réaction pour obtenir les nouveaux dérivés **78a-r** était une condensation de Knoevenagel. Cette réaction s'est produite entre les dérivés aldéhydiques **71a-f** et la thiazolidine-2,4-dione **53**, ainsi que leurs dérivés **55a-c**. La réaction a été effectuée en utilisant du toluène en milieu de l'acide acétique et de la pipéridine en tant que catalyseurs. Cette réaction est restée au reflux pendant une heure. Tous les produits sont des solides et ont été purifiés par lavage du solide avec les solvants éthanol et méthanol, ce dernier étant nécessaire en cas d'impureté de polarité supérieure.

Les rendements obtenus en obtenant cette série de molécules ont été variés, comme le montre le tableau 09. Certaines molécules ont eu de faibles rendements, tels que le composé **78g**, mais les rendements globaux ont été modérés à excellents.

Tableau 09. Rendement de l'obtention de nouvelles molécules hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidine-2,4-dione **78a-r**.

Composés 78	R ¹	R ³	Code.	Rend. (position 2)	Code	Rend. (position 3)
	NO ₂	H	78a	47%	78j	58%
		-(4-Cl)-CH ₂ COPh	78b	76%	78k	67%
		-(4-F)-CH ₂ COPh	78c	44%	78l	44%
		-(4-NO ₂)-CH ₂ COPh	78d	91%	78m	31%
	F	H	78e	72%	78n	60%
		-(4-Cl)-CH ₂ COPh	78f	39%	78o	44%
		-(4-F)-CH ₂ COPh	78g	25%	78p	50%
		-(4-NO ₂)-CH ₂ COPh	78h	36%	78q	42%
	OMe	H	78i	59%	78r	62%

Les structures des nouvelles molécules hybrides **78a-r** ont été élucidées par RMN ¹H et ¹³C, spectroscopie de masse et infrarouge. La figure 25 montre le spectre RMN ¹H de la molécule **78b**. L'analyse de ce spectre confirme la formation de la molécule par la présence de tous les atomes d'hydrogène mis en évidence par les couleurs. Entre 3,78 ppm et 4,93 ppm, il existe des pics correspondant aux atomes d'hydrogène de CH₂ présents dans la région imdazole du noyau 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine. Un peu plus débloqué à 5,32 ppm est le signal correspondant aux hydrogènes CH₂ de la fraction acétophénone liée au noyau thiazolidine-2,4-dione. À 7,50 ppm, il est possible de vérifier la présence d'un pic de faible intensité s'intégrant à 1 hydrogène seulement et correspondant à l'hydrogène vinylique de la région condensée entre les noyaux 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine et thiazolidine-2,4-dione. Dans la région de spectre la plus haute du spectre, où des protons aromatiques apparaissent, il est possible de voir un ensemble de signaux, y compris des doublets, correspondant aux atomes aromatiques présents dans la molécule. Ces atomes sont surlignés en vert sur la figure et apparaissent dans la plage de 7,67 ppm à 8,34 ppm, comme est possible le voir ci-dessous.

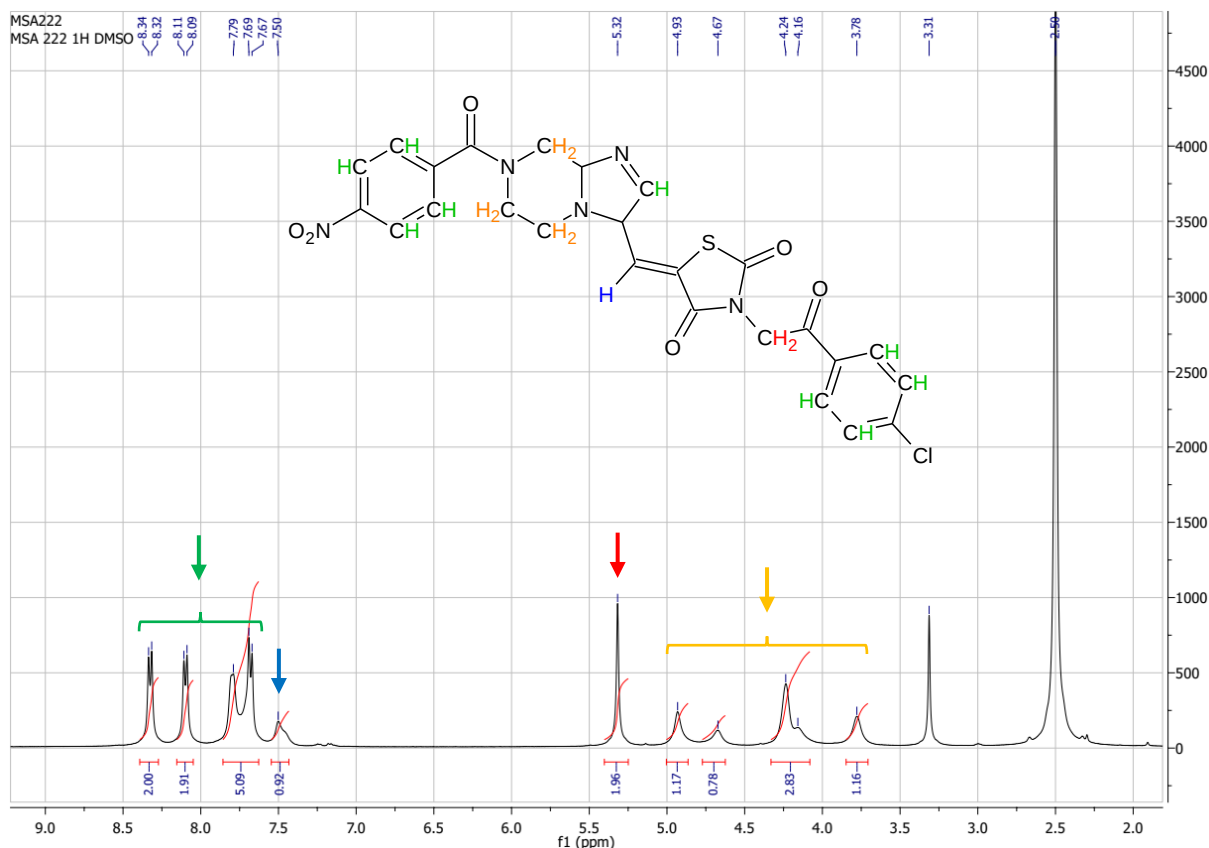
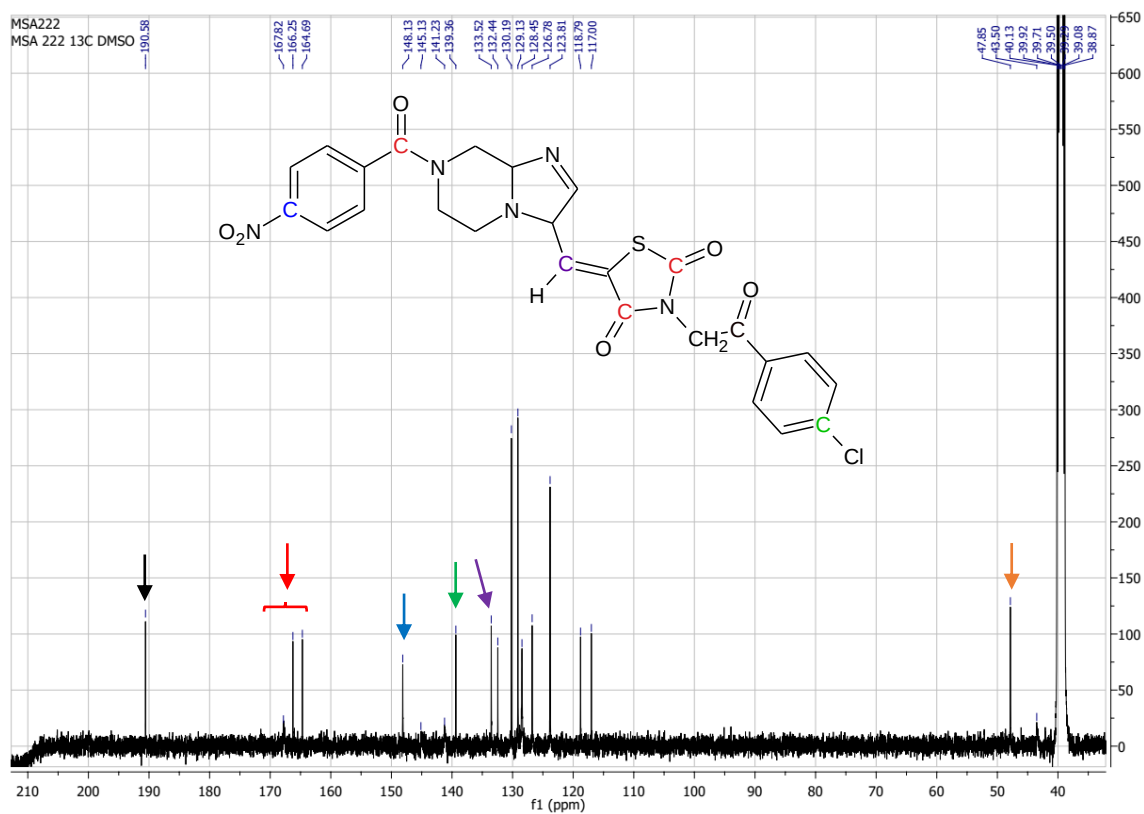


Figure 25. Spectre RMN ^1H de la molécule **78b** obtenue dans le solvant DMSO- d_6 .

La figure 26 montre le spectre RMN ^{13}C de la molécule **78b** dans DMSO- d_6 . Dans ce spectre, il est possible de voir certains pics diagnostiques de la molécule, tels que le signal à 47,85 ppm correspondant au CH_2 du fragment acétophénone lié au noyau thiazolidine-2,4-dione. Dans la région du spectre de champ supérieur, certains pics importants peuvent être mis en évidence, tels que le signal à 133,52 ppm qui correspond au carbone vinylique à double liaison joignant les deux noyaux hybridés. Les signaux à 139,36 ppm et 148,13 ppm correspondent, respectivement, aux carbones quaternaires aromatiques qui sont liés aux radicaux chlore et nitro. Les carbonyles présents dans la molécule peuvent également être visualisés dans le spectre avec les signaux caractéristiques de ces structures à 164,69 ppm, 166,25 ppm, 167,82 ppm et 190,58 ppm, respectivement. Les carbones présents dans le noyau 5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-*a*]pyrazine n'ont pas une bonne résolution. Dans certaines molécules, les pics ne peuvent être visualisés que par le spectre bidimensionnel « Heteronuclear Single Quantum Coherence – HSQC ». La non-apparition des pics liés à ces atomes de carbone est probablement due à la difficulté de relaxation de spin de ces atomes, due à la structure non plane de ce noyau.



5- CHAPITRE 3 - ACTIVITE BIOLOGIQUE

5.1- LES OBJECTIFS

5.1.1- Objectif général

Evaluer l'activité antitrypanosomatidae, l'activité antichagas et antileishmania des nouveaux dérivés synthétisés et la cytotoxicité des composés synthétisés.

5.1.2- Objectifs spécifiques

- a. Evaluer l'activité anti-Leishmania des composés synthétisés 56a-g, 57a-u, 75a-x, 77a,b et 78a-r contre *L. amazonensis* et *L. infantum*, dans toutes les formes évolutives de parasites.
- b. Evaluer l'activité anti-Leishmania des composés synthétisés 56a-g, 57a-u, 75a-x, 77a,b et 78a-r contre l'espèce *L. major* dans toutes les formes évolutives du parasite.
- c. Evaluer l'activité antichagastique des composés synthétisés 56a-g, 57a-u, 75a-x, 77a,b et 78a-r contre toutes les formes évolutives de *T. cruzi*.
- d. Evaluer la cytotoxicité des composés synthétisés 56a-g, 57a-u, 75a-x, 77a,b et 78a-r contre les macrophages et contre les cellules HeLa.

5.2- METHODOLOGIE

5.2.1.- Activité anti-Leishmania *in vitro* contre *L. amazonensis* et *L. infantum*

5.2.1.1- Culture de la forme promastigote de *L. amazonensis* et *L. infantum*

Les formes promastigotes de *Leishmania amazonensis* (souche WHOM / 00 LTB 0016) et de *L. infantum* (souche MHOM / MA / 67 / ITMAP-263) ont été maintenues à 26 °C dans du milieu de Schneider (Sigma) additionné de 10% de sérum de veau fœtal. - PBS (milieu complet). Des parasites à la phase de croissance exponentielle ont été utilisés dans toutes les expériences.

5.2.1.2- Activité anti-Leishmania contre la forme évolutive promastigote de *L. amazonensis* et *L. infantum*

Pour le test d'activité leishmanicide, les parasites ont été comptés et dilués dans du milieu complet de Schneider (Sigma) à 1×10^6 cellules / mL. Les parasites ont été incubés à 26 °C en présence de différentes concentrations des composés (1,5 à 200 µg / mL) pendant 72 heures. Les parasites incubés avec le milieu de culture et la miltefosine ont été utilisés respectivement comme témoins négatifs et positifs. La croissance cellulaire a été évaluée et la CI_{50} / 72h a été déterminée par analyse de régression. Chaque test a été effectué en triple.

5.2.1.3- Activité anti-Leishmania contre la forme évolutive amastigote de *L. amazonensis* et *L. infantum*

Pour cette évaluation, les macrophages RAW 264.7 ont été répartis dans des plaques à 24 puits (3×10^5 cellules / mL) contenant une lamelle ronde stérile. Les macrophages ont été incubés en vue d'une adhésion pendant 2 heures à 37 °C et dans une atmosphère à 5% de CO₂. Après cette incubation initiale, des promastigotes infectieux de *L. amazonensis* ou de *L. infantum* ont été ajoutés à raison de 8 parasites / macrophages pendant une période de 6 heures à 37 °C et 5% de CO₂. Les parasites non intériorisés ont été éliminés par lavage et la culture a été de nouveau incubée en présence de différentes concentrations de composés (6 à 200 µg / mL) pendant 24 heures à 37 °C et à 5% de CO₂. La miltefosine a été utilisée comme contrôle positif aux mêmes concentrations que les composés. Après incubation, les lamelles

contenant la culture ont été lavées avec du PBS, recueillies et colorées avec le kit Rapid Panotic Staining. Le pourcentage de macrophages infectés ainsi que le nombre d'amastigotes / macrophages ont été déterminés en comptant 100 macrophages en double. L'activité leishmanicide des composés a été vérifiée par la diminution du nombre de macrophages et d'amastigotes intracellulaires infectés dans les cultures traitées par rapport à la culture témoin non traitée. Les valeurs IC₅₀ ont été calculées par analyse de régression à l'aide du logiciel GraphPad Prism.

5.2.2- Activité anti-Leishmania *in vitro* contre *L. major*

Les composés ont été dilués dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) pour obtenir des solutions mères à 10 mM de concentration. Les dilutions de chaque composé ont été moyennées en fonction de la lignée cellulaire de chaque culture jusqu'à une concentration finale maximale de 1% de DMSO.

5.2.2.1- Culture de la forme promastigote de *L. major*

Les souches de promastigotes de *L. major* (MHOM / IL / 81 / BNI) ont été maintenues dans le milieu de culture de Schneider (Sigma Chemical Co. St Louis, Mo) avec 13% de sérum de veau fœtal inactivé par la chaleur (PBS, SigmaeAldrich), pénicilline (100 UI / mL) et streptomycine (100 mg / mL) à 26 °C pendant 7 jours.

5.2.2.2- Activité anti-leishmania *in vitro* contre la forme évolutive promastigote de *L. major*

Les tests de sensibilité des promastigotes ont été réalisés à l'aide du micromètre spectrofluorométrique décrit précédemment (PAPE; PAGNIEZ; ABDALA, 2002). 100 µl d'une suspension de 10⁶ promastigotes / mL ont été placés dans une plaque à 96 puits. Les cultures ont été exposées aux molécules pendant 96 heures à 26 °C. La mesure a été effectuée 4 heures après l'addition de 10 µL d'une solution de 700 µM de résazuride. Ensuite, l'émission de fluorescence a été mesurée à 590 nm avec une excitation de 550 nm.

5.2.2.3- Activité anti-leishmania *in vitro* contre le stade amastigote de *L. major*

La cytotoxicité vis-à-vis du stade amastigote intracellulaire du parasite a été déterminée à la suite d'une infection macroscopique péritonéale chez des souris Balb / c (CE Janvier, Le Genest, France). Pour l'infection, 100 µl d'une suspension de macrophages péritonéaux ont été placés dans une plaque de lame de verre à 24 puits (Nunc) (10 mm de diamètre) à $1,5 \times 10^5$ cellules / mL dans du RPMI 1640 à 15%. SFB à 37 °C et 5% de CO₂. Après 24 heures d'incubation pour permettre la ligature, les macrophages ont été infectés avec 100 µl d'une suspension de promastigotes en phase stationnaire ($1,5 \times 10^5$ promastigotes / mL dans du milieu RPMI 1640 plus 15% de PBS) puis incubés pendant 24 heures à 37 °C et 5% de CO₂ pour infection. La culture de macrophages a été lavée et exposée aux composés à une concentration de 10 µM. Le milieu contenant les composés a été remplacé après 48 heures. Après 2 jours, les cultures ont été fixées avec du méthanol, colorées avec May-Grunwalde Giemsa et examinées au microscope. Le nombre moyen d'amastigotes par macrophage a été déterminé en comptant le nombre d'amastigotes dans 100 macrophages sélectionnés au hasard et dans chaque duplicata. Les pourcentages inhibiteurs après traitement avec 10 µM des composés ont été calculés en utilisant les valeurs du nombre d'amastigotes par macrophage. Le pourcentage de macrophages infectés a également été calculé (PAGNIEZ et al., 2006).

5.2.3- Activité antichagasique *in vitro*.

5.2.3.1- Culture de *Trypanosoma cruzi* - forme épimastigote

Les formes épimastigotes (souche DM28c) ont été maintenues dans du milieu LIT additionné de PBS à 20% à 27 °C.

5.2.3.2- Activité antichagasique contre la forme évolutive des épimastigotes

Pour déterminer l'effet antiprolifératif des formes épimastigotes de la souche DM28c (10^6 parasites / mL) ont été maintenus sur du milieu LIT + antibiotique à 1% (Gibco Pen Strep - 10 000 U / mL de pénicilline + 10 000 µg / mL de streptomycine) + 20% de PBS, ont été étalées dans des plaques à 96 puits à 27 °C, avec différentes concentrations de composé (0,19; 1,56; 6,25; 25; 100 µg / mL) pendant 96 heures. Chaque composé a été testé en double. Le contrôle négatif était dans des puits non traités et le médicament de référence utilisé comme contrôle positif était le

benzinidazole. La viabilité parasitaire a été déterminée par comptage direct dans la chambre de Neubauer et, à partir de ces valeurs, la CI_{50} (concentration qui inhibe la croissance de 50% des parasites) a été obtenue par régression linéaire simple à l'aide du logiciel Prisma 5.0 Graphpad.

5.2.3.3- Culture de *Trypanosoma cruzi* - forme trypomastigote

Les formes trypomastigotes (souche Y) ont été obtenues à partir de l'infection *in vitro* (1×10^7 parasites) de la lignée de cellules Vero après confluence en culture.

5.2.3.4- Activité antichagastique contre la forme évolutive des trypomastigotes

Pour déterminer l'effet antiprolifératif sur les formes trypomastigotes souche Y, 4×10^6 parasites ont été maintenues dans du milieu RPMI avec 1% d'antibiotiques et 5% de PBS, sur des plaques à 96 puits à 37 °C, avec différentes concentrations des composés (0,19 ; 1,56 ; 6,25 ; 25 ; 100 μg / mL) pendant 24 heures sous une atmosphère à 5% de CO_2 . Chaque composé a été testé en double. En tant que contrôle de réaction négatif, des puits non traités ont été utilisés et le médicament de référence utilisé comme contrôle positif était le benzinidazole. La viabilité parasitaire a été déterminée par comptage direct à la chambre de Neubauer et, à partir de ces valeurs, la CI_{50} a été obtenue par régression linéaire simple à l'aide du logiciel Prisma 5.0 Graphpad.

5.2.3.5- Culture de *T. cruzi* pour le test trypanocide contre la forme amastigote

Pour le test *in vitro* des composés trypanocides, la souche Tulahuen de *T. cruzi* a été utilisée, exprimant le gène de la β -galactosidase d'*Escherichia coli*. Les formes infectieuses trypomastigotes sont obtenues en cultivant des monocouches de fibroblastes de souris L929 dans du milieu RPMI-1640 (pH 7,2-7,4), sans rouge de phénol (Gibco BRL), contenant 10% de sérum bovin fœtal et 2 mM de glutamine.

5.2.3.6- Activité antichagastique contre la forme évolutive amastigote

Pour l'essai biologique, 4 000 cellules L929 dans 80 μL de milieu supplémenté sont ajoutées à chaque puits d'une plaque de microtitrage à 96 puits. Après une

incubation d'une nuit, 40.000 trypomastigotes dans 20 μ L sont ajoutés aux cellules puis incubés à 37 °C pendant 2 h. Le milieu contenant des parasites qui n'ont pas pénétré les cellules est remplacé par 200 μ L de milieu frais et la plaque est incubée pendant 48 heures supplémentaires pour établir l'infection. Le milieu est ensuite remplacé par des solutions des composés à 10 ou 20 mg/mL dans du DMSO et la plaque est incubée 96 heures à 37 °C. Après cette période, 50 μ L de chlorophénol 500 μ M de glycoside rouge dans 0,5% de Nonidet P40 sont ajoutés à chaque puits et la plaque est incubée pendant 18 heures à 37 °C, puis l'absorbance à 570 nm est mesurée. Les contrôles avec des cellules non infectées et des cellules infectées traitées avec du benzinidazole ou non traitées, fonctionnent en parallèle. Les tests en triple sont effectués sur la même plaque (ROMANHA et al., 2010).

5.2.4- Evaluation de l'activité cytotoxique dans les macrophages

Les macrophages de la souche RAW 264.7 ont été libérés des bouteilles de culture et étalés dans des plaques à fond plat à 96 puits et incubés pendant 24 heures à 37 °C et une atmosphère à 5% de CO₂ pour l'adhérence. Après cette période, les composés ont été ajoutés à des concentrations de 6 à 200 μ g / mL et incubés à nouveau pendant une période de 48 heures. Les puits ont été utilisés uniquement avec un milieu de culture en tant que contrôle négatif. Après incubation, 25 μ L de MTT (bromure de 3- (4,5-diméthylthiazol-2-yl) -2,5-diphényltétrazolium) à 5 mg / mL dans du PBS ont été ajoutés, puis incubés pendant 2 heures à 37 °C et protégé de la lumière. Une partie du milieu de culture ainsi que le MTT restant ont été aspirés et 100 μ L de DMSO ont été ajoutés par puits pour solubiliser les cristaux de formazan résultant de la réduction du MTT. La lecture de l'absorbance à 570 nm a été effectuée sur le spectrophotomètre THERMO SCIENTIFIC Multiskan FC. La concentration cytotoxique pour 50% de la culture (CC₅₀) a été déterminée par analyse de régression par le logiciel GraphPad Prism. Chaque test a été effectué en triple.

5.2.5- Evaluation de l'activité cytotoxique dans les cellules HeLa

Les cellules HeLa ont été repiquées tous les 4 jours dans du milieu RPMI 1640 additionné de 10% de SFB (Sigma-Aldrich). Les cellules ont été récoltées après une incubation de 5 minutes avec une solution de trypsine (Sigma-Aldrich). Les cellules

HeLa ont étéensemencées dans une microplaque à 96 puits avec 100 μL d'une suspension à 10^5 / ml dans chaque puits. Après une période d'incubation de 24 heures à 37 °C et 5% de CO_2 , 100 μL des composés à différentes concentrations ont été ajoutés en double. Au bout de 96 heures, 10 μL d'une solution de résazurine (700 μM) ont été ajoutés. Après 3 heures d'incubation à 37 °C, 5% de CO_2 , la fluorescence a été mesurée à 590 nm avec une excitation à 550 nm.

5.3- RESULTATS ET DISCUSSION

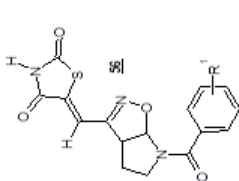
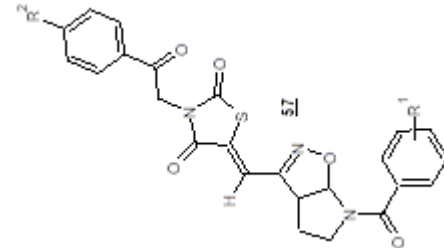
5.3.1- Activité anti-leishmania

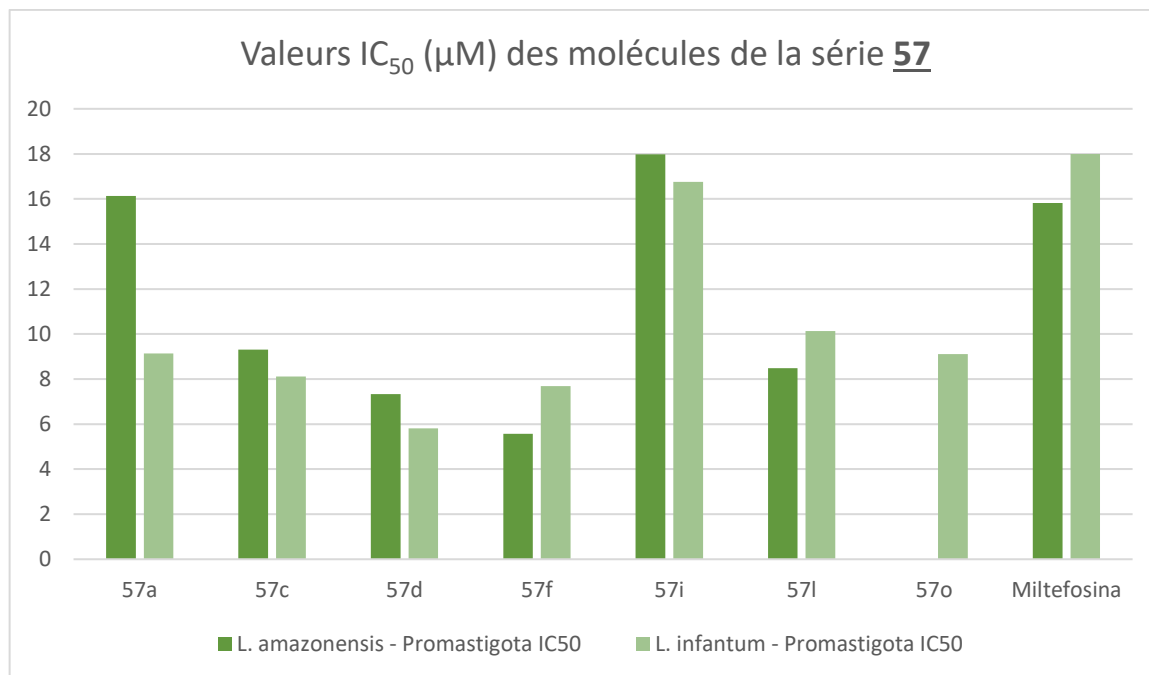
Des tests de détermination de l'activité anti-Leishmania contre *L. amazonensis* et *L. infantum* ont été mis au point au Laboratoire d'immunologie et de biologie moléculaire du département d'immunologie de l'Institut Aggeu Magalhães / FIOCRUZ. Parallèlement, des tests d'évaluation de l'activité anti-leishmania contre *L. major* ont été développés au Laboratoire de parasitologie et de mycologie médicale (IICiMed) de l'Université de Nantes - France.

5.3.1.1- Série d'isoxazoline aza-bicyclique (séries **56a-q** et **57a-u**)

Les résultats obtenus pour la détermination de la concentration inhibitrice à 50% (CI₅₀) des hybrides 2-isoxazoline aza-bicycliques / thiazolidna-2,4-dione **56a-q** et **57a-u** contre *L. amazonensis* et *L. infantum* (formes promastigotes et amastigotes) sont présentés dans le tableau 10. Des résultats prometteurs ont été obtenus en ce qui concerne la forme évolutive promastigote des deux espèces. Ces résultats avec une IC₅₀ inférieure au médicament standard utilisé, la miltéfosine. Les molécules **57c**, **57d**, **57f** et **57i** ont montré de bons résultats IC₅₀ pour les formes promastigotes de *L. amazonensis* et *L. infantum*. Ceux-ci ont des atomes d'halogène (chlore et fluor) dans R¹ et R². En revanche, les molécules **57a**, **57i** et **57o** ont montré de bonnes valeurs de IC₅₀ uniquement pour l'espèce de *L. infantum*, et ces molécules ne possèdent d'atome d'halogène que dans R². Il est possible que la présence d'un atome d'halogène soit nécessaire à la présentation de l'activité anti-leishmania. Le graphique 01 montre les valeurs IC₅₀ des molécules qui ont montré une activité pour une meilleure visualisation des résultats.

Tableau 10. Résultats de l'activité anti-Leishmania contre *L. amazonensis* et *L. infantum* et IC₅₀ des composés **56a-g** et **57a-u**.

Estrutura	Composé.	R ¹	R ²	<i>L. amazonensis</i> IC ₅₀ (uM)		<i>L. infantum</i> IC ₅₀ (uM)	
				Promastigote	Amastigote	Promastigote	Amastigote
	56a	4-Cl	H	273	>1058,76	281,6	>1058,76
	56b	4-F	H	>553,49	>553,49	>553,49	>553,49
	56c	4-OMe	H	>535,64	>1071,29	>535,64	>1071,29
	56d	4- <i>tert</i> -butyl	H	111	507,18	160,21	500,92
	56e	4-CH ₃	H	>559,62	322,06	>559,62	>559,62
	56f	4-NO ₂	H	>514,99	>514,99	>514,99	48,61
	56g	3-NO ₂	H	364	>514,99	>514,99	>514,99
	57a	4-Cl	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	16,1	>377,09	9,14	>377,09
	57b	4-Cl	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	68,3	92,06	22,25	>369,73
	57c	4-Cl	-CH ₂ CO(4-F)Ph	9,31	>389,16	8,11	35,29
	57d	4-F	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	7,33	122,19	5,81	>389,16
	57e	4-F	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	38,2	85,41	74,03	90,77
	57f	4-F	-CH ₂ CO(4-F)Ph	5,57	>402,03	7,69	84,14
	57g	4-OMe	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	39,8	>380,98	19,98	>380,98
	57h	4-OMe	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	186	>372,77	117,74	94,42
	57i	4-OMe	-CH ₂ CO(4-F)Ph	18	>392,54	16,76	>392,54
	57j	4- <i>tert</i> -butyl	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	>362,29	180,25	>362,29	>362,2
	57k	4- <i>tert</i> -butyl	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	29,3	68,36	36,2	>710,98
	57l	4- <i>tert</i> -butyl	-CH ₂ CO(4-F)Ph	8,48	222,56	10,13	>373,42
	57m	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	21,4	230,01	34,08	41,29
	57n	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	75,9	186,55	27,37	143,09
	57o	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-F)Ph	19,4	93,43	9,11	221,88
	57p	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	40,2	208,34	31,83	32,61
	57q	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	>360,69	535,64	215,23	34,23
	57r	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	49,3	184,5	25,81	>381,26
	57s	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	185	>369,73	119,96	>369,73
	57t	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	>362,66	>362,66	>362,66	>362,66
	57u	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	155,66	>381,33	156,72	>381,33
Miltefosine				15,8	7,07	18	1,67



Graphique 01. Valeurs IC₅₀ des molécules de la série **57** montrant une activité anti-leishmania.

Les molécules non remplacées sur l'atome d'azote thiazolidine-2,4-dione (série **56**) n'ont pas montré d'activité anti-leishmania chez les espèces répertoriées dans le tableau 10 dans les deux formes évolutives testées. Il n'existait pas non plus d'activité antiparasitaire supérieure à celle du médicament de référence pour la forme évolutive amastigote pour toutes les molécules de la série **57**, qui se substitue à l'atome d'azote de la thiazolidine-2,4-dione.

Comme le montre le tableau 11, l'activité des 26 molécules synthétisées dans cette série a été évaluée par rapport à la forme promastigote de *L. major*. Il est possible de vérifier que parmi les molécules testées, environ 70% des molécules étaient actives. Ceux-ci ont montré des résultats IC₅₀ inférieurs à ceux du médicament standard utilisé, la pentamidine. Les valeurs obtenues ne diffèrent pas de manière significative par rapport aux radicaux présents (R¹ et R²), ce qui rend l'analyse de leurs caractéristiques chimiques telles que l'électronégativité, le volume des atomes et les activateurs et désactivateurs des cycles aromatiques. Il n'a pas été possible de déterminer la relation structurelle des molécules testées, qu'il y ait ou non une augmentation de l'activité antileishmania chez cette espèce.

Le Série **56a-g**, sans substituant sur l'atome d'azote thiazolidine-2,4-dione, présentait une CI₅₀ beaucoup plus élevée que celle de la pentamidine, contrairement

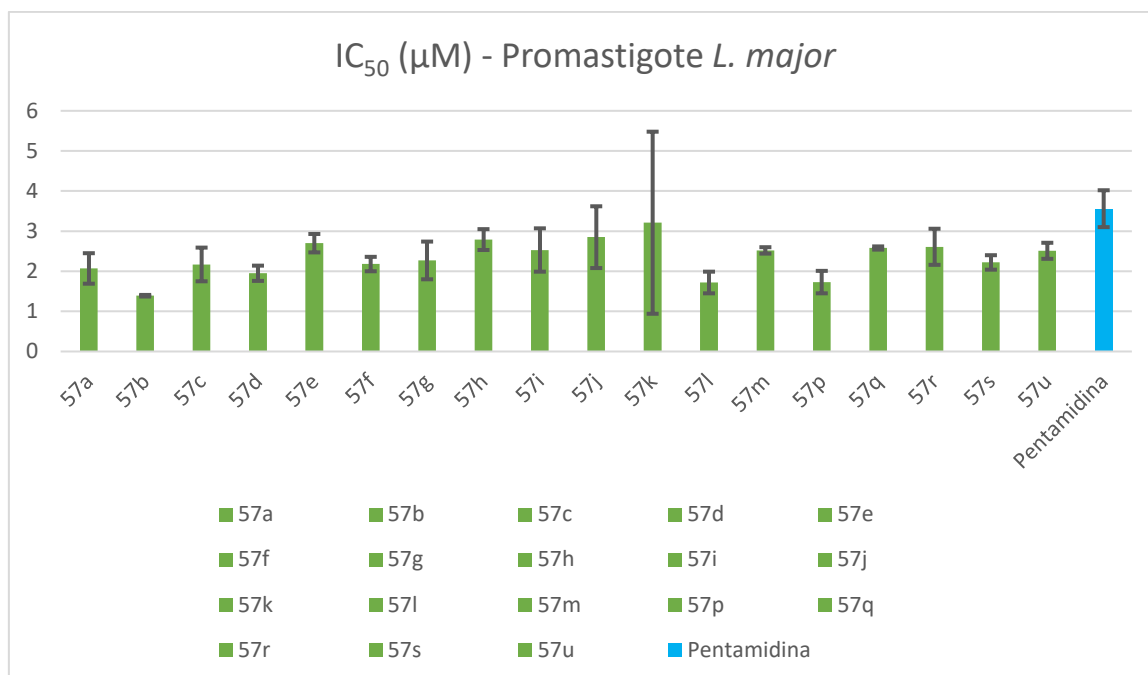
à la série **57a-u**, qui présentait l'azote substitué, qui présentait généralement une CI_{50} inférieure à celle de la pentamidine.

Les molécules présentant les meilleurs résultats contre *L. major* étaient **57b**, **57d**, **57i** et **57p** avec des résultats de CI_{50} de 1,39, 1,95, 1,72 et 1,73 μM , respectivement. Toutes les valeurs peuvent également être vues dans le graphique 02, qui montre toutes les molécules dont les valeurs de CI_{50} étaient inférieures à celles de la pentamidine (3,56 μM). Il est important de souligner que les molécules **57b** et **57p** étaient bien connues pour leur activité contre la forme promastigote de *L. major* mais ne présentaient aucune activité antiparasitaire contre les autres espèces de *Leishmania* testées (*L. amazonensis* et *L. infantum*).

Tableau 11. Résultats de l'activité anti-Leishmania contre la forme promastigote de *L. major* des composés **56a-g** et **57a-u**.

Comp.	R ¹	R ²	Promast. IC ₅₀ (uM)	Comp.	R ¹	R ²	Promast. IC ₅₀ (uM)
56a	4-Cl	H	74,73±0,00	57h	4-OMe	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	2.79±0.26
56b	4-F	H	>100	57i	4-OMe	-CH ₂ CO(4-F)Ph	2.53±0.54
56c	4-OMe	H	>100	57j	4- <i>terc</i> -butil	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2.85±0.77
56d	4- <i>terc</i> -butil	H	24,18±5,06	57k	4- <i>terc</i> -butil	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	3,21±2,27
56e	4-toluil	H	>100	57l	4- <i>terc</i> -butil	-CH ₂ CO(4-F)Ph	1.72±0.27
56f	4-NO ₂	H	>100	57m	4-toluil	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2.52±0.08
56g	3-NO ₂	H	>100	57n	4-toluil	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	-
57a	4-Cl	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2.07±0.38	57o	4-toluil	-CH ₂ CO(4-F)Ph	-
57b	4-Cl	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	1.39±0.02	57p	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	1.73±0.28
57c	4-Cl	-CH ₂ CO(4-F)Ph	2.17±0.42	57q	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	2.58±0.04
57d	4-F	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	1.95±0.19	57r	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	2.61±0.45
57e	4-F	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	2,7±0,23	57s	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2.22±0.18
57f	4-F	-CH ₂ CO(4-F)Ph	2.18±0.18	57t	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	7.33±3.17
57g	4-OMe	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2.27±0.47	57u	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	2.51±0.20
Pentamidine		3.56±0.46					

-: Non testé.



Graphique 02. Résultat du test antileishmania contre la forme promastigote de *L. major* des molécules actives de la série **57**.

5.3.1.2- Série 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine (Série **75a-x**, **77a,b** et **78a-r**)

L'hybride 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarbazone **75a-x**, 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone **77a,b** et 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidine-2,4-dione **78a-r** ont été testée pour *L. amazonensis*, *L. infantum* et *L. major*, ainsi que pour la série décrite ci-dessus. Les tests ont été effectués en suivant la même procédure et ont été développés aux emplacements décrits au point 5.3.1.

Les résultats obtenus de l'activité d'antileishmania contre *L. amazonensis* et *L. infantum* sont présentés dans les tableaux 12, 13 et 14. Pour toutes les molécules présentées, la valeur de la CI₅₀ en µM était supérieure à la valeur obtenue pour le médicament standard miltefosine, tant pour les espèces décrites que pour les formes évolutives promastigotes et amastigotes. Ainsi, ces molécules ne présentaient pas d'activité antileishmanienne significative.

Tableau 12. Résultat de l'activité antileishmania (IC₅₀ en µM) contre *L. amazonensis* et *L. infantum* des dérivés hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarbazone **75a-x**.

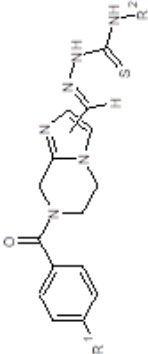
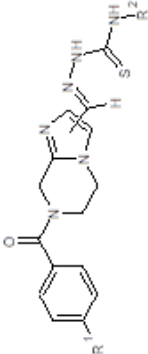
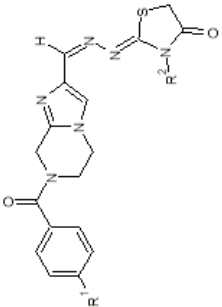
STRUCTURE	R ¹	R ²	POSITION 2	L. amazonensis IC ₅₀ (µM)		L. infantum IC ₅₀ (µM)	
				Promastigote	Amastigote	Promastigote	Amastigote
	NO ₂	H	75a	36,23	>535,63	>535,63	>535,63
		Ph	75b	348,4	223,14	454,74	>889,91
		4-Cl-Ph	75c	222,96	>413,28	133,84	>413,28
		4-F-Ph	75d	246	204,01	244,07	>855,66
		4-OMe-Ph	75e	>417,09	>417,09	>417,09	>417,09
		4-NO ₂ -Ph	75f	102,39	>404,46	122,16	>404,46
	F	H	75g	>577,40	>577,40	>577,40	>577,40
		Ph	75h	88,64	271,23	131,45	233,19
		4-Cl-Ph	75i	24,57	122,77	42,61	126,82
		4-F-Ph	75j	171,11	199,06	108,25	80,41
		4-OMe-Ph	75k	50,49	84,5	49,08	74,23
		4-NO ₂ -Ph	75l	113,33	22,8	125,27	22,24
	R ¹	R ²	POSITION 3	L. amazonensis IC ₅₀ (µM)		L. infantum IC ₅₀ (µM)	
				Promastigote	Amastigote	Promastigote	Amastigote
	NO ₂	H	75m	>535,63	>535,63	>535,63	>535,63
		Ph	75n	104,83	>444,95	82,2	>444,95
		4-Cl-Ph	75o	114,83	>413,28	174,3	>413,28
		4-F-Ph	75p	121,39	>427,83	112,79	>427,83
		4-OMe-Ph	75q	191,02	>417,09	152,23	>417,09
		4-NO ₂ -Ph	75r	83,31	>404,46	78,97	>404,46
	F	H	75s	> 577,40	> 577,40	> 577,40	> 577,40
		Ph	75t	126,51	>473,40	180,39	>473,40
		4-Cl-Ph	75u	133,04	312,08	145,99	>875,42
		4-F-Ph	75v	175,06	>454,07	124,64	>454,07
4-OMe-Ph		75w	110,14	>441,98	89,67	>441,98	
4-NO ₂ -Ph		75x	263,97	855,66	70,5	>855,66	
MILTEFOSINE				15,82	7,07	18	1,67

Tableau 13. Résultat de l'activité antileishmania (IC_{50} en μM) contre *L. amazonensis* et *L. infantum* à partir des dérivés hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone **77a,b**.

STRUCTURE	R ¹	R ²	POSITION 2	L. amazonensis		L. infantum	
				IC_{50} (μM) Promastigote	IC_{50} (μM) Amastigote	IC_{50} (μM) Promastigote	IC_{50} (μM) Amastigote
	H	NO ₂	77a	>483,78	>483,78	>483,78	>483,78
			77b	>384,96	>384,96	>384,96	>384,96
MILTEFOSINE				15,82	7,07	18	1,67

Les tests d'activité antilishmania contre la forme promastigote de *L. major* ont montré, pour toutes les molécules des séries **75a-x**, **77a,b** et **78a-r**, une valeur de CI_{50} supérieure à 10 μM à l'exception de la molécule de **78h**. La valeur IC_{50} présentée par elle était égale à la pentamidine, médicament de référence, 1,53 μM avec une erreur de $\pm 0,13$.

En comparant structurellement les séries **57** (isoxazolines aza-bicycliques) et **78** (5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine), où les deux possèdent le noyau thiazolidine-2,4-dione, il a été constaté que les isoxazolines aza-bicycliques sont un facteur important d'activité contre le promastigote de *L. major*.

5.3.2- Activité antichagasique

Des tests biologiques de détermination de l'activité anti-*Trypanosome cruzi* ont été réalisés au Laboratoire d'immunologie et de biologie moléculaire du département d'immunologie de l'Institut Aggeu Magalhães / FIOCRUZ.

5.3.2.1- Série d'isoxazoline aza-bicyclique (séries **56a-g** et **57a-u**)

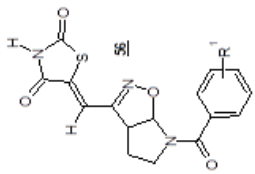
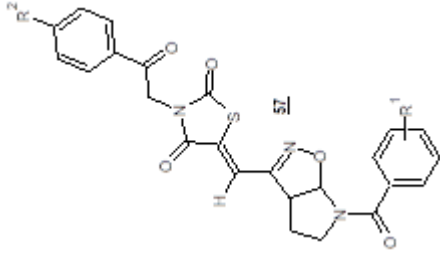
Les résultats de l'activité antiparasitaire des séries **56a-g** et **57a-u** contre le parasite *T. cruzi* pour les formes évolutives epimastigote et trypomastigote sont présentés dans le tableau 15. Des résultats positifs peuvent être observés pour les deux formes évolutives, les meilleurs résultats étant à la forme épimastigote. La plupart des molécules de la série **56** n'étaient pas actives contre cette forme évolutive, à l'exception de la molécule **56f** présentant une IC_{50} de 1,44 μM et de la CI_{50} du benzinidazole 10,52 μM pour cette forme évolutive. Parmi les molécules **57a-u**, seule la molécule **57t**, substituée par le radical NO_2 dans R^1 et R^2 , ne présentait pas d'activité anti-trypanosome.

Le résultat de l'activité antichagasique contre la forme trypomastigote a des valeurs de IC_{50} inférieures à celles du benzinidazole. Parmi les molécules de la série **56a-g** qui ne présentent pas de remplacement azoté du fragment thiazolidine-2,4dione, seule la molécule **56a** a présenté activité. Il est possible de vérifier que les molécules les plus actives sous la forme trypomastigote sont de la série **57a-u**, celles qui présentent une substitution dans l'atome d'azote du noyau thiazolidna-2,4-dione,

ce qui peut constituer une preuve expérimentale de la nécessité d'une substitution pour augmenter l'activité anti-Trypanosome.

L'évaluation de l'activité antichagasique contre les formes amastigotes de *T. cruzi* a démontré que les molécules synthétisées présentaient des CI_{50} supérieures au benzinidazole ou étaient inactives par rapport à la souche testée. Il est important de souligner qu'en plus de la forme amastigote étant pour la première fois la phase évolutive la plus importante, c'est aussi la forme la plus difficile. Parce qu'il est situé à l'intérieur de la cellule, le composé doit traverser la membrane plasmique et pénétrer dans la cellule pour effectuer l'action trypanocide. Parmi les molécules testées, deux avaient les valeurs CI_{50} les plus faibles, les molécules **57a** et **57u**, qui ont toutes deux des atomes d'halogène dans leur structure moléculaire.

Tableau 15. Résultat de l'évaluation anti-*Trypanosome* (IC₅₀ - µM) des séries **56a-g** et **57a-u**.

Structure	Composé	R ¹	R ²	<i>Trypanosoma cruzi</i> IC ₅₀ µM		
				Epimastigote (souche)	Tripomastigote (souche Y)	Amastigote (souche)
	56a	4-Cl	H	54,36	14,24	39,997882
	56b	4-F	H	>276,74	>276,74	Inactif
	56c	4-OMe	H	33,63	85,03	>53,564732
	56d	4- <i>terc</i> -butyl	H	85,81	76,65	26,786161
	56e	4-CH ₃	H	ND	197,6	Inactif
	56f	4-NO ₂	H	1,44	>257,49	Inactif
	56g	3-NO ₂	H	57,78	49	>51,499935
	57a	4-Cl	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	7,05	>188,54	9,993023
	57b	4-Cl	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	1,55	>184,86	36,97336
	57c	4-Cl	-CH ₂ CO(4-F)Ph	2,70	>194,58	Inactif
	57d	4-F	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2,50	>194,58	Inactif
	57e	4-F	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	3,31	>190,66	38,133007
	57f	4-F	-CH ₂ CO(4-F)Ph	6,43	>201,01	Inactif
	57g	4-OMe	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2,20	23,75	>38,078140
	57h	4-OMe	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	3,76	>186,38	>37,277963
	57i	4-OMe	-CH ₂ CO(4-F)Ph	3,27	>196,27	39,25417
	57j	4- <i>terc</i> -butyl	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	1,86	26,32	Inactif
	57k	4- <i>terc</i> -butyl	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	9,10	15,8	>35,549235
	57l	4- <i>terc</i> -butyl	-CH ₂ CO(4-F)Ph	2,50	32,15	Inactif
	57m	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	2,39	56	>39,218762
	57n	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	2,05	24,28	37,292631±1.
	57o	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-F)Ph	4,07	19,47	Inactif
	57p	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	1,73	49,21	36,97336
	57q	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	2,39	37,49	Inactif
	57r	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	5,52	69,42	25,168265
	57s	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	8,68	>184,86	17,192612
	57t	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	17,69	>181,33	Inactif
	57u	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	6,69	>190,66	12,393463
Benzimidazole				10,52	40,96	3,8

5.3.2.2- Série 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine (séries **75a-x**, **77a,b** et **78a-r**)

Les tableaux 16 et 17 présentés ci-dessous présentent les résultats de l'évaluation contre le parasite *T. cruzi* des nouvelles molécules hybrides **75a-x**, **77a,b** et **78a-r** en déterminant la CI_{50} , en utilisant le benzinidazole comme médicament référence. Le tableau 16 présente les valeurs de la CI_{50} et évalue également l'influence de la modulation en positions 2 et 3 pour les composés de la série **75a-x**. La plupart des molécules qui ont présenté une activité significative contre la forme évolutive trypomastigote ont une modulation en position 2 du noyau. 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine.

Tableau 16. Résultat de la détermination de la CI_{50} pour évaluer l'activité anti-trypanosomienne de molécules **75a-x**.

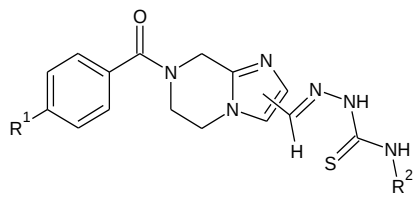
STRUCTURE	R ¹	R ²	POSITION 2	Tripom. IC ₅₀ - μM (Souche Y)	Epim. IC ₅₀ - μM (Souche DM28c)	Amast. IC ₅₀ μM (Souche Talahuen)	
	NO ₂	H	<u>75a</u>	>267,81	-	Inativo	
		Ph	<u>75b</u>	2,60	57,53	8,00	
		4-Cl-Ph	<u>75c</u>	6,71	-	6,61	
		4-F-Ph	<u>75d</u>	3,05	12,27	8,55	
		4-OMe-Ph	<u>75e</u>	3,24	-	Inativo	
		4-NO ₂ -Ph	<u>75f</u>	12,97	-	Inativo	
	F	H	<u>75g</u>	7,43	-	Inativo	
		Ph	<u>75h</u>	2,41	11,64	<10,41	
		4-Cl-Ph	<u>75i</u>	1,88	10,54	8,75	
		4-F-Ph	<u>75j</u>	5,85	-	>45,40	
		4-OMe-Ph	<u>75k</u>	3,11	-	6,40	
		4-NO ₂ -Ph	<u>75l</u>	2,35	-	4,06	
		R ¹	R ²	POSITION 3	Tripom. IC ₅₀ - μM (Souche Y)	Epim. IC ₅₀ - μM (Souche DM28c)	Amast. IC ₅₀ μM (Souche Talahuen)
	NO ₂	H	<u>75m</u>	>267,81	-	Inativo	
		Ph	<u>75n</u>	>222,47	-	13,79	
4-Cl-Ph		<u>75o</u>	>206,68	-	29,75		
4-F-Ph		<u>75p</u>	>213,91	-	15,18		

Tableau 17. Résultat de la détermination de la CI_{50} pour évaluer l'activité anti-trypanosomienne de molécules **75a-x**. (Continuation)

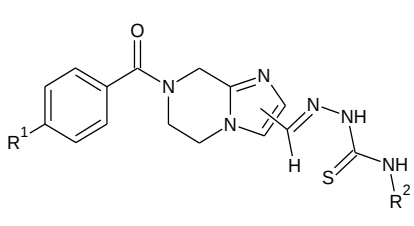
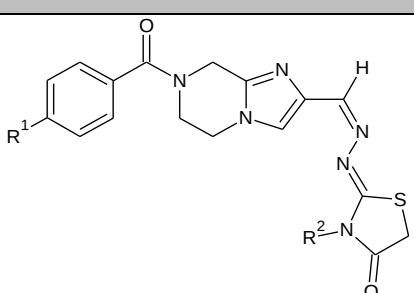
STRUCTURE	R ¹	R ²	POSITION 3	Tripom. IC ₅₀ - μM (Souche Y)	Epim. IC ₅₀ - μM (Souche DM28c)	Amast. IC ₅₀ μM (Souche Talahuen)
	NO ₂	4- OMe- Ph	<u>75q</u>	>208,54	-	>41,70
		4-NO ₂ - Ph	<u>75r</u>	6,35	-	Inativo
		H	<u>75s</u>	139,96	-	Inativo
	F	Ph	<u>75t</u>	8,94	-	47,34
		4-Cl- Ph	<u>75u</u>	2,62	6,82	12,69
		4-F-Ph	<u>75v</u>	6,74	-	>45,40
		4- OMe- Ph	<u>75w</u>	>200,99	-	>44,19
		4-NO ₂ - Ph	<u>75x</u>	52,11	44,32	37,86+/- 6,84
		Benzimidazole			40.96	10.52

Tableau 18. Résultat de la détermination de la CI_{50} pour évaluer l'activité anti-trypanosomienne de molécules **77**.

STRUCTURE	R ¹	R ²	POSITION 2	Trypom. IC ₅₀ - μM (Souche Y)	Epim. IC ₅₀ - μM (Souche DM28c)	Amast. IC ₅₀ μM (Souche Talahuen)
	NO ₂	H	<u>77a</u>	46,83	-	Inactif
		4-OMe- Ph	<u>77b</u>	>94,35	-	>38,49
		Benzimidazole			40,96	10,52

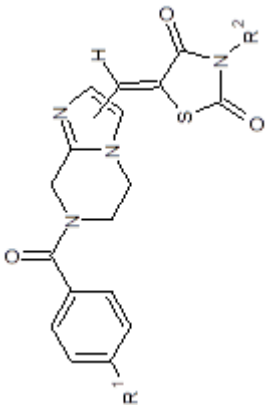
D'après les résultats présentés dans le tableau 16, il est possible de vérifier que toutes les molécules avec R¹ égal au fluorure (avec modulation en position 2) ont d'excellentes valeurs de CI_{50} sur le trypanomastigote, comparativement au benzinidazole, avec une CI_{50} égale à 40,96 μM. La molécule **75i** présentait une IC_{50} contre le trypanomastigote de 1,88 μM et, comparée à la forme épimastigote, présentait une activité modérée, avec une CI_{50} semblable à celle du benzinidazole, 10,54 et 10,52 μM, respectivement. Parmi les molécules **75a-x**, modulées en position 3, uniquement les molécules **75r**, **75t**, **75u** et **75v** ont présentée CI_{50} inférieure au benzinidazole par rapport au trypanomastigote, le **75u** est également actif contre l'épimastigote avec une

Cl₅₀ de 6,82 µM. D'un autre côté, toujours dans le tableau 16, les résultats des molécules de la série **75a-x** contre la forme amastigote évolutive variaient de valeurs inactives à Cl₅₀ supérieures à celles du benzinidazole (3,8 µM). Parmi les molécules qui ont montré une certaine valeur de Cl₅₀, les molécules de cette série remplacées en position 2 ont montré les valeurs de Cl₅₀ les plus faibles, telles que la molécule de **75l**, avec une concentration inhibitrice à 50% de 4,06 µM.

Les molécules hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine/thiazolidinone **77** ont montré une activité trypanocide inférieure au médicament de référence au vu des formes évolutives trypomastigote et amastigote ou étaient inactives.

Le tableau 18 présente les résultats de l'évaluation de l'activité trypanocide de molécules hybrides **78a-r** par rapport à la forme évolutive des trypomastigotes. Compte tenu de ce qui précède, il n'est pas possible d'établir une relation entre l'activité anti-trypanosome et la structure des molécules en raison de la présence d'un résultat non corrélé avec les structures chimiques. Parmi les molécules actives, il existe des molécules substituées par des atomes d'halogène, avec des grappes volumineuses et non volumineuses et une électronégativité variée, mais les résultats ne suivent pas une proportion et un schéma permettant de déterminer l'influence de ces caractéristiques chimiques sur les valeurs de la Cl₅₀. La molécule ayant le meilleur résultat anti-trypomastigote était **78n**, ce qui montrait 4,84 µM de concentration inhibitrice à 50%, mais cette molécule était inactive compte tenu de la forme amastigote du parasite. Parmi les valeurs de Cl₅₀ par rapport aux formes amastigotes, la molécule **78k** était la seule de la série à présenter une valeur inférieure au benzinidazole, sa Cl₅₀ étant de 3,26 µM. D'autres molécules de la série ont montré des valeurs de Cl₅₀ supérieures à celles du benzinidazole ou étaient inactives en raison de cette forme évolutive.

Tableau 19. Résultat de la détermination de la CI_{50} pour l'évaluation de l'activité anti-trypansomienne de molécules **78a-r**.

STRUCTURE	R ¹	R ²	POSITION 2	Trypomastigote IC ₅₀ - μM (souche Y)	Amastigote IC ₅₀ μM (souche Talahuen)
	H	H	78a	17	Inactif
	NO ₂	-(4-Cl)-	78b	32,84	>9,05
		-(4-F)-	78c	84,22	Inactif
		-(4-NO ₂)-	78d	43,02	Inactif
	F	H	78e	70,89	Inactif
		-(4-Cl)-	78f	26,64	>9,52
		-(4-F)-	78g	9,1	>9,83
		-(4-NO ₂)-	78h	45,75	20,91+/-16,43
	OMe	H	78i	38,65	Inactif
	NO ₂	H	78j	>250,38	Inactif
		-(4-Cl)-	78k	>181,17	3,26
		-(4-F)-	78l	11,93	30,06
		-(4-NO ₂)-	78m	34,55	Inactif
	F	H	78n	4,84	Inactif
		-(4-Cl)-	78o	17,59	Inactif
		-(4-F)-	78p	106,3	>39,33
		-(4-NO ₂)-	78q	7,72	Inactif
	OMe	H	78r	34,8	Inactif
Benzimidazole				40,96	3,8

5.3.3- Détermination de la cytotoxicité

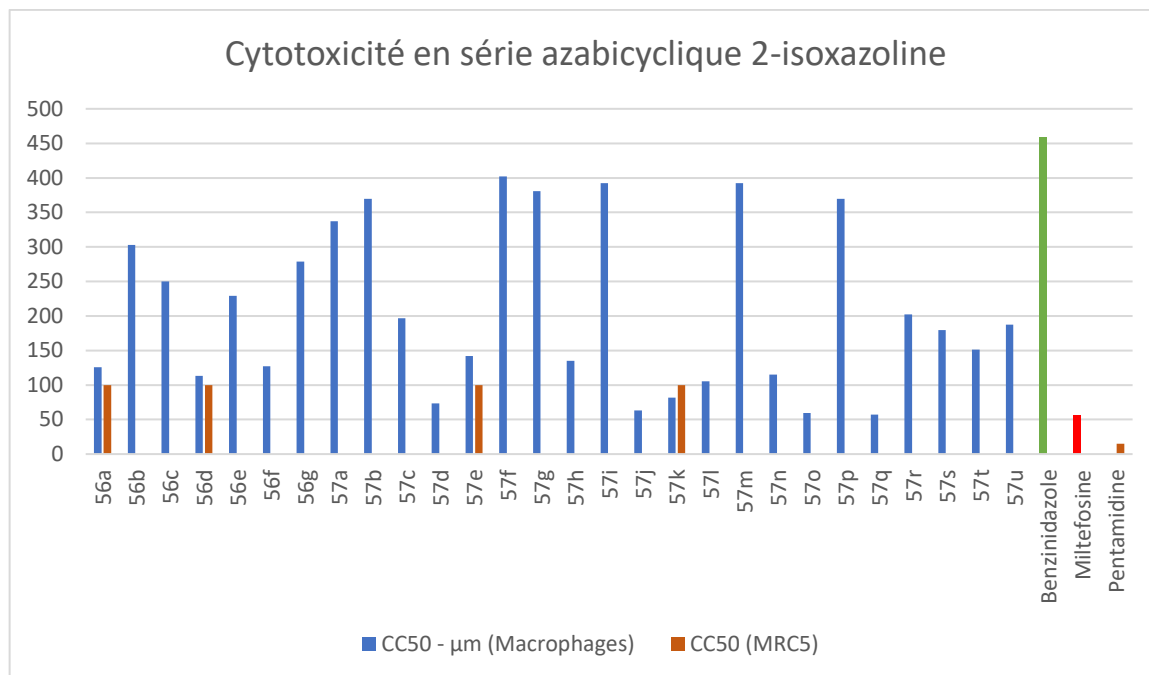
La cytotoxicité dans les cellules de mammifères (macrophages) a été évaluée par des essais au MTT. Cet essai est basé sur la réduction des sels jaunes de tétrazolium par les réductases mitochondriales de cellules métaboliquement actives. En métabolisant le tétrazolium, des cristaux de formazan se forment dans ces cellules ; Ceux-ci doivent être lysés pour la solubilisation et une analyse ultérieure par spectrophotométrie. La quantité de formazan produite est directement proportionnelle au nombre de cellules viables. Plus la viabilité cellulaire est grande, plus le taux de réduction du MTT et l'absorbance sont élevés, de sorte que le CC_{50} est indirectement proportionnel à la quantité de formazan / absorbance.

Le tableau 19 montre les valeurs trouvées pour la cytotoxicité des molécules des séries 2-isoxazolines azabicycliques **56** et **57**. Il est possible constater que, comparées au CC_{50} benzinidazole, toutes les molécules présentaient des valeurs significativement plus basses. Ces données indiquent que les molécules ont une cytotoxicité supérieure à celle du benzinidazole et lui est le seul médicament antiparasitaire actuellement utilisé pour la maladie de Chagas et que présente un grave problème de toxicité entraînant l'apparition de nombreux effets secondaires. En comparant les résultats présentés dans ce tableau avec ceux du tableau 15, les molécules **56a**, **57k**, **57l** et **57q** étaient actives contre la forme évolutive des trypomastigotes du parasite et présentaient une cytotoxicité inférieure à celle du benzinidazole. Le graphique 03 montre les valeurs présentées dans le tableau 19, pour une meilleure vue comparative.

En ce qui concerne la cytotoxicité de ces molécules par rapport au médicament miltefosine, il est possible de vérifier qu'elles étaient toutes non toxiques avec un CC_{50} supérieur à 56,67 μ M. L'étude de cytotoxicité sur les cellules MRC5 est toujours en cours, mais les résultats non finis démontrent que les molécules testées n'ont pas montré une cytotoxicité inférieure à 15 μ M de CC_{50} présentée par le médicament à l'essai, la pentamidine. Par conséquent, ces molécules sont considérées comme non cytotoxiques.

Tableau 20. Valeurs de cytotoxicité (CC₅₀ - µM) des molécules des séries 2-isoxazolines azabicycliques **56a-g** et **57a-u** déterminées dans les macrophages et MRC5.

Composé	R ¹	R ²	CC ₅₀ - µM (Macrophage)	CC ₅₀ (MRC5)
56a	4-Cl	H	126,01	>100
56b	4-F	H	303,03	
56c	4-OMe	H	250,22	
56d	4- <i>terc</i> -butil	H	113,30	>100
56e	4-toluil	H	229,13	
56f	4-NO ₂	H	127,28	
56g	3-NO ₂	H	278,87	
57a	4-Cl	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	>337,09	
57b	4-Cl	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	>369,73	
57c	4-Cl	-CH ₂ CO(4-F)Ph	196,91	
57d	4-F	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	73,45	
57e	4-F	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	142,00	>100
57f	4-F	-CH ₂ CO(4-F)Ph	>402,03	
57g	4-OMe	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	>380,98	
57h	4-OMe	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	135,09	
57i	4-OMe	-CH ₂ CO(4-F)Ph	>392,54	
57j	4- <i>terc</i> -butil	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	63,22	
57k	4- <i>terc</i> -butil	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	81,78	>100
57l	4- <i>terc</i> -butil	-CH ₂ CO(4-F)Ph	105,60	
57m	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	>392,18	
57n	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	115,07	
57o	4-CH ₃	-CH ₂ CO(4-F)Ph	59,59	
57p	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	>369,73	
57q	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	57,24	
57r	4-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	202,29	
57s	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-Cl)Ph	179,48	
57t	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-NO ₂)Ph	151,15	
57u	3-NO ₂	-CH ₂ CO(4-F)Ph	187,63	
Benzinidazole			459,19	
Miltefosine			56,67	
Pentamidine				15 ± 0,2



Graphique 03. Cytotoxicité, en µM, des séries des 2-isoxazolines azabicycliques **56** et **57** déterminée dans les macrophages et MRC5.

Le tableau 20 présente les valeurs de concentration en cytotoxique à 50% de macrophages des molécules hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine **75a-x**, **77a,b** et **78-r** testées par le même procédé que celui décrit pour la série azabicyclique 2-isoxazoline adiscuté précédemment, l'essai de mesure de la concentration de formazan à partir de la lecture d'absorbance par spectrophotomètre. Par rapport au benzinidazole CC₅₀ (459,19 µM), la plupart des molécules étaient toxiques.

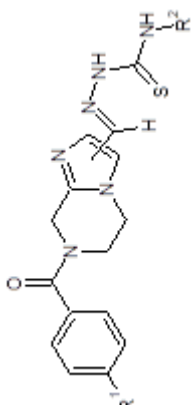
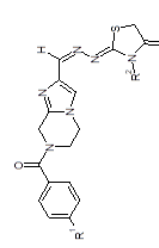
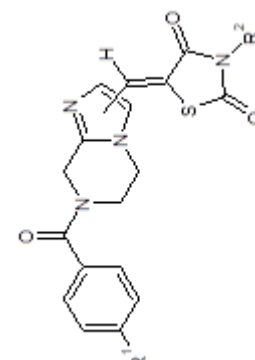
La série de dérivés hybrides **75a-x** n'a présenté que 3 molécules avec une activité non cytotoxique. Il s'agissait de molécules **75e** (CC₅₀ > 471,09 µM) et **75g** (CC₅₀ > 577,4 µM) modulées en position 2 du noyau 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine et de la molécule **75s** (CC₅₀ > 577,4 µM) modélisé en position 3 du noyau central. Les molécules de **75g** et **75h** ont présenté la même cytotoxicité et ne diffèrent que par la position de modélisation et sont remplacées dans R¹ par l'halogène de fluor et dans R² par l'atome d'hydrogène. Comparant toujours avec le benzinidazole CC₅₀, des deux molécules hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone **77**, seule la molécule **77a** avait un CC₅₀ plus élevé.

Les molécules hybrides **78a-r** présentaient également un pourcentage élevé de cytotoxicité relative par rapport au benzinidazole. Toutes les molécules modulées en position 2 du noyau central avaient une CC₅₀ inférieure à celle du médicament de

référence pour la maladie de Chagas. Une seule molécule modulée en 3 a montré une cytotoxicité supérieure au benzinoidazole, la molécule **78j** avec le radical NO₂ dans R¹, l'atome d'hydrogène dans R² et CC₅₀ > 500,77 µM.

Le médicament de référence utilisé pour vérifier l'activité antileishmania contre *L. amazonensis* et *L. infantum* était la miltéfosine, dont le CC₅₀ était de 56,67 µM. En comparant la cytotoxicité des molécules testées à la cytotoxicité présentée par la miltéfosine, seuls quelques échantillons étaient toxiques. Parmi les dérivés **75a-x**, les molécules **75h**, **75i** et **75k**, modulées en position 2, présentaient des CC₅₀ de 31,19, 26,63 et 37,78 µM, respectivement. Parmi les dérivés **75a-x** modulés en position 3, seule la molécule **75u** (CC₅₀ 49,89 µM) présentait cytotoxicité. Les deux composés cités sont des dérivés fluorés sur R¹. Parmi les dérivés **77a,b**, les deux molécules ont montré une bonne cytotoxicité relative, cependant, les molécules de la série **78a-r** ont également montré des valeurs élevées de CC₅₀, à l'exception de **78k** avec CC₅₀ 23,62 µM et **78p** avec CC₅₀ 45,52 µM. Les deux ont des substitutions d'atomes d'halogène qui peuvent indiquer une cytotoxicité accrue par la présence de ces éléments

Tableau 21. Valeurs de cytotoxicité (CC₅₀ - µM) des molécules des séries 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine **75a-x**, **77a,b** et **78a-r** déterminées dans les macrophages.

STRUCTURE	R ¹	R ²	POSITION 2	CC ₅₀ - µM	POSITION 3	CC ₅₀ - µM
	H	H	75a	272,1	75m	304,5
	Ph	Ph	75b	118,06	75n	>444,9
	NO ₂	4-Cl-Ph	75c	152,64	75o	>413,28
		4-F-Ph	75d	111,94	75p	>427,83
		4-OMe-Ph	75e	>471,09	75q	>417,09
		4-NO ₂ -Ph	75f	94,64	75r	>404,46
	F	H	75g	>577,4	75s	> 577,40
		Ph	75h	31,19	75t	236,49
		4-Cl-Ph	75i	26,63	75u	49,89
		4-F-Ph	75j	73,87	75v	84,36
	4-OMe-Ph		75k	37,78	75w	101,96
		4-NO ₂ -Ph	75l	105,78	75x	>427,83
	H	H	77a	>483,78	-	-
	NO ₂	4-OMe-Ph	77b	>94,35	-	-
		H	78a	292,26	78j	>500,77
		-(4-Cl)-	78b	116,24	78k	23,62
	NO ₂	-(4-F)-	78c	195,89	78l	126,25
		-(4-NO ₂)-	78d	130,66	78m	140,47
		H	78e	117,08	78n	309,63
	F	-(4-Cl)-	78f	63,45	78o	79,66
		-(4-F)-	78g	79,96	78p	45,52
		-(4-NO ₂)-	78h	154,13	78q	110,47
	OMe	H	78i	215,76	78r	277,05
			BENZINIDAZOLE	459,19		459,19
			MILTEFOSINE	56,67		56,67

6- CONCLUSION

Les séries des 2-isoxazolines azabicycliques **56a-g** et **57a-u** ont été correctement synthétisées sans problèmes majeurs en utilisant l'expertise du groupe de recherche. Les nouvelles molécules synthétisées, ainsi que les nouveaux intermédiaires esters, alcools et aldéhydes d'isoxazoline et les 28 nouvelles molécules hybrides 2-isoxazoline / thiazolidine-2,4-dione, ont eu ses caractéristiques chimiques déterminées et ont été structurellement caractérisées par des analyses spectroscopiques de résonance magnétique nucléaire (RMN) ^1H et ^{13}C , ainsi que par spectres infrarouges. La masse exacte de cette série a été déterminée par analyse de masse à haute résolution (MALDI-TOF).

L'obtention de les molécules hybrides des séries 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine **75a-x**, **77a,b** et **78a-r** a été réalisée avec succès. La synthèse des molécules finales et de tous les intermédiaires a été réalisée sans difficultés majeures, à l'exception des sels **70a** et **70b** qui ont été utilisés sans purification préalable. Seules deux molécules de la série hybride 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidinone **77** ont été synthétisées. Leur identification a été faite par analyse de masse et infrarouge. Leur identification par analyse RMN sera refaite, mais la synthèse et la purification ont été développées comme décrit dans la littérature et sans complications.

Les structures des molécules hybrides 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiosemicarbazone **75a-x** et 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine / thiazolidine-2,4-dione **78a-r** ont été complètement élucidés par des analyses spectrométriques de RMN ^1H et ^{13}C unidimensionnelles et bidimensionnelles, infrarouge et masses, et ont également permis de déterminer leurs caractéristiques physico-chimiques.

Les molécules synthétisées des deux séries ont été soumis aux analyses d'une activité anti-trypanosome et anti-leishmania contre les parasites *T. cruzi* et 3 espèces du genre *Leshimania* (*L. amazonensis*, *L. infantum* et *L. major*), en plus des tests de cytotoxicité.

Les molécules des deux séries ont montré une activité antiparasitaire. Pour la série 2-isoxazoline azabicyclique, les molécules **57c**, **57d**, **57f** et **57l** étaient actives contre les formes promastigotes de *L. amazonensis* et *L. infantum*, et les molécules **57a**, **57i** et **57o** n'étaient actives que contre l'espèce *L. infantum* sous la forme évolutive promastigote. Les molécules de cette série n'ont montré aucune activité contre la

forme évolutive amastigote des espèces *L. amazonensis* et *L. infantum*. En revanche, contre la forme évolutive promastigote de l'espèce *L. major*, 70% des molécules étaient actives. Contre le parasite *T. cruzi*, seules les molécules **57e** et **57k** avaient une CI_{50} inférieure au benzinidazole, par rapport aux formes trypomastigotes du protozoaire. Les molécules de cette série ont montré des valeurs de CI_{50} supérieures à celles du benzinidazole opo inactives en raison de la forme amastigote du parasite.

Les molécules de la série 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine ne présentaient pas d'activité anti-Leishmania pour les trois espèces testées, mais certaines molécules avaient une activité intéressante contre la forme trypomastigote de *T. cruzi*. La plupart des molécules actives de la série **75a-x** ont un atome de fluor, indiquant une relation possible entre la présence de cet halogène et l'activité biologique en question. Les molécules de la série **77** n'ont pas montré d'activité anti-trypanosome et parmi les molécules de la série **78a-r**, la molécule **78n** a montré une meilleure activité sous la forme trypomastigote et la molécule **78k** sous la forme amastigote.

Les résultats de cytotoxicité des molécules de la série 2-isoxazoline azabicyclique ont montré que les molécules ne présentaient aucune cytotoxicité par rapport à la CC_{50} des médicaments références benzinidazole, pentamidine et miltefosine testés contre *T. cruzi*, *L. major* et *L. amazonensis* et *L. infantum*, respectivement. La série 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine a montré que les molécules **75e**, **75g**, **75s** et **77a** ne présentaient aucune cytotoxicité par rapport au benzinidazole. En revanche, en associant les valeurs de CC_{50} à la miltefosine, les molécules **77** ont montré une bonne cytotoxicité relative, mais les molécules **75h**, **75i**, **75k**, **75u** étaient cytotoxiques, ainsi que les molécules **78k** et **78p**. Cependant, la grande majorité des molécules avaient une faible cytotoxicité.

Certains résultats d'activité biologique, tels que le test contre la forme amastigote de *T. cruzi* et la forme amastigote de *L. major*, sont en cours. Les résultats d'études plus spécifiques telles que le *biding* et le *docking* de ces molécules sont également en cours. Tous les résultats seront présents dans les articles en cours de rédaction, résultats de ce travail.

Ainsi, 5 séries de nouvelles molécules contenant l'isoxazoline azabicyclique et les noyaux 5,6,7,8-tétrahydroimidazo[1,2-a]pyrazine ont été synthétisées, soit un total de 72 molécules prometteuses quant à leur activité antitrypanosome et antileishmania.

REFERÊNCIAS

ALEGAON, S. G.; ALAGAWADI, K. R. New thiazolidinedione-5-acetic acid amide derivatives: Synthesis, characterization and investigation of antimicrobial and cytotoxic properties. **Medicinal Chemistry Research**, 2012.

AN, W. et al. Discovery of novel 2-phenyl-imidazo[1,2-a]pyridine analogues targeting tubulin polymerization as antiproliferative agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2016.

AVUPATI, V. R. et al. Synthesis, characterization and biological evaluation of some novel 2,4-thiazolidinediones as potential cytotoxic, antimicrobial and antihyperglycemic agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, 2012.

BELANGER, D. B. et al. Discovery of imidazo[1,2-a]pyrazine-based Aurora kinase inhibitors. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, 2010.

BENMOHAMMED, A. et al. Synthesis of novel highly functionalized 4-thiazolidinone derivatives from 4-phenyl-3-thiosemicarbazones. **Molecules**, 2014.

BERMUDEZ, J. et al. **Current drug therapy and pharmaceutical challenges for Chagas disease** *Acta Tropica*, 2016.

BISWAS, K.; KUMAR, A.; DAS SARMA, K. One-pot high-throughput synthesis of a 160-membered library of methyl 3,5-diaryl-isoxazoline-5-carboxylate pharmacophores by a 2·2·2- component reaction. **ACS Combinatorial Science**, 2013.

BLACKBURN, C. et al. Parallel synthesis of 3-aminoimidazo[1,2-a]pyridines and pyrazines by a new three-component condensation. **Tetrahedron Letters**, 1998.

BURZA, S.; CROFT, S. L.; BOELAERT, M. **Leishmaniasis** *The Lancet*, 2018.

CANTEY, P. T. et al. The United States Trypanosoma cruzi Infection Study: evidence for vector-borne transmission of the parasite that causes Chagas disease among United States blood donors. **Transfusion**, v. 52, n. 9, p. 1922–1930, set. 2012a.

CANTEY, P. T. et al. The United States Trypanosoma cruzi Infection Study: evidence for vector-borne transmission of the parasite that causes Chagas disease among United States blood donors. **Transfusion**, v. 52, n. 9, p. 1922–1930, set. 2012b.

CHEN, D. et al. Design, synthesis and antithrombotic evaluation of novel non-peptide thrombin inhibitors. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, 2017.

CROVETTO-MARTÍNEZ, R. et al. Mucocutaneous leishmaniasis must be included in the differential diagnosis of midline destructive disease: Two case reports. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**, 2015.

CUNHA, S.; SILVA, T. L. DA. One-pot and catalyst-free synthesis of thiosemicarbazones via multicomponent coupling reactions. **Tetrahedron Letters**,

2009.

DA SILVA SANTOS, J. et al. Synthesis, anti-Trypanosoma cruzi activity and quantitative structure relationships of some fluorinated thiosemicarbazones. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 195, p. 1–33, 2017.

DALLANOCE, C. et al. A novel spirocyclic tropanyl- Δ^2 -isoxazoline derivative enhances citalopram and paroxetine binding to serotonin transporters as well as serotonin uptake. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, 2012.

DE ALMEIDA, V. M. et al. Synthesis of new aza-bicyclic 2-isoxazolines by 1,3-dipolar cycloaddition of endocyclic enecarbamates and enamides with nitrile oxides. **Tetrahedron Letters**, 2009.

DE MENEZES, D. DA R. et al. Hydroxamic acid derivatives: a promising scaffold for rational compound optimization in Chagas disease. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, 2016.

DE VRIES, H. J. C.; REEDIJK, S. H.; SCHALLIG, H. D. F. H. **Cutaneous Leishmaniasis: Recent Developments in Diagnosis and Management** American Journal of Clinical Dermatology, 2015.

ESPÍNDOLA, J. W. P. et al. Synthesis and structure-activity relationship study of a new series of antiparasitic aryloxyl thiosemicarbazones inhibiting Trypanosoma cruzi cruzain. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2015.

ESS, D. H.; HOUK, K. N. Theory of 1,3-dipolar cycloadditions: Distortion/interaction and frontier molecular orbital models. **Journal of the American Chemical Society**, 2008.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Doença de Chagas**. Disponível em: <http://www.cpqrr.fiocruz.br/informacao_em_saude/cict/doenca_de_chagas.htm>. Acesso em: 13 dez. 2018.

GARAMVÖLGYI, R. et al. Design and synthesis of new imidazo[1,2-a]pyridine and imidazo[1,2-a]pyrazine derivatives with antiproliferative activity against melanoma cells. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2016.

GARCIA-SALCEDO, J. A. et al. New approaches to overcome transport related drug resistance in trypanosomatid parasites. **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, n. SEP, p. 1–14, 2016.

GAVARA, L. et al. Synthesis and biological activities of pyrazolo[3,4-g]quinoxaline derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2010.

GEORGIADOU, S. P.; MAKARITSIS, K. P.; DALEKOS, G. N. Leishmaniasis revisited: Current aspects on epidemiology, diagnosis and treatment. **Journal of Translational Internal Medicine**, 2015.

GHIDINI, E. et al. Discovery of a novel isoxazoline derivative of prednisolone endowed with a robust anti-inflammatory profile and suitable for topical pulmonary

administration. **Steroids**, 2015.

GOEL, R.; LUXAMI, V.; PAUL, K. **Recent advances in development of imidazo[1,2-a]pyrazines: Synthesis, reactivity and their biological applications***Organic and Biomolecular Chemistry*, 2015.

GOTO, H.; LAULETTA LINDOSO, J. A. **Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis***Infectious Disease Clinics of North America*, 2012.

HANDLER, M. Z. et al. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis Clinical perspectives. 2015.

HOUK, K. N. The Frontier Molecular Orbital Theory of Cycloaddition Reactions. **Accounts of Chemical Research**, 1975.

HUANG, B. et al. Fused heterocycles bearing bridgehead nitrogen as potent HIV-1 NNRTIs. Part 4: Design, synthesis and biological evaluation of novel imidazo[1,2-a]pyrazines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2015.

ISMAIL, T. et al. Design and Synthesis of Novel 1,2,3-Triazole- and 2-Isoxazoline-Based Bis-Heterocycles as Immune Potentiators. **Archiv der Pharmazie**, 2015.

JAIN, K.; JAIN, N. K. **Novel therapeutic strategies for treatment of visceral leishmaniasis***Drug Discovery Today*, 2013.

JOSÉ A PÉREZ-MOLINA, I. M. Chagas disease. **The Lancet** , v. 391, p. 82–94, 2018.

KALARIA, P. N.; SATASIA, S. P.; RAVAL, D. K. Synthesis, identification and in vitro biological evaluation of some novel 5-imidazopyrazole incorporated pyrazoline and isoxazoline derivatives. **New Journal of Chemistry**, 2014.

KAMAL, A. et al. Synthesis of tetrazole-isoxazoline hybrids as a new class of tubulin polymerization inhibitors. **MedChemComm**, 2012.

KAMIMURA, A.; HORI, K. Reversing the Regiochemical Course of 1,3-Dipolar Cycloaddition of Nitrile oxides by Modification of Dipolarophiles. **Tetrahedron**, 1994.

KAPIL, S.; SINGH, P. K.; SILAKARI, O. **An update on small molecule strategies targeting leishmaniasis***European Journal of Medicinal Chemistry*, 2018.

KHAZIR, J. et al. Synthesis and anticancer activity of novel spiro-isoxazoline and spiro-isoxazolidine derivatives of α -santonin. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2013.

KIRAN KUMAR, A. B. V; UMA RAVI SANKAR, A.; KIM, S. H. A simple, efficient one-pot synthesis of 2-isoxazoline derivatives and their antimicrobial activity. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, 2014.

KONDACS, L. A. et al. Synthesis of Isoxazoline Derivatives Based on Nitrile Oxide

Cycloaddition of Nitroso-Nitro-Enamine. **European Journal of Organic Chemistry**, 2015.

KRAUS, G. A.; NEUENSCHWANDER, K. A Facile Synthesis of N-Acyl-2-pyrrolines. **Journal of Organic Chemistry**, 1981.

KÜÇÜKGÜZEL, G. et al. Synthesis and biological activity of 4-thiazolidinones, thiosemicarbazides derived from diflunisal hydrazide. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2006.

LEITE, F. H. A. et al. Structure-guided discovery of thiazolidine-2,4-dione derivatives as a novel class of Leishmania major pteridine reductase 1 inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 123, p. 639–648, 2016.

MANCUSO, A. J.; HUANG, S. L.; SWERN, D. Oxidation of Long-Chain and Related Alcohols to Carbonyls by Dimethyl Sulfoxide “Activated” by Oxalyl Chloride. **Journal of Organic Chemistry**, 1978.

MANDAWAD, G. G. et al. An efficient synthesis of isoxazoline libraries of thiophene analogs and its antimycobacterial investigation. **Medicinal Chemistry Research**, 2014.

MARCHAND, P. et al. Synthesis, antileishmanial activity and cytotoxicity of 2,3-diaryl- and 2,3,8-trisubstituted imidazo[1,2-a]pyrazines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2015.

MARHADOUR, S. et al. Synthesis and biological evaluation of 2,3-diaryl-imidazo[1,2-a]pyridines as antileishmanial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2012.

MARKOVIĆ, V. et al. Influence of anthraquinone scaffold on E/Z isomer distribution of two thiosemicarbazone derivatives. 2D NMR and DFT studies. **Journal of Molecular Structure**, 2014.

MCDONALD, I. M.; PEESE, K. M. General Method for the Preparation of Electron-Deficient Imidazo[1,2-a]pyridines and Related Heterocycles. **Organic Letters**, 2015.

MCGWIRE, B. S.; SATOSKAR, A. R. Leishmaniasis: Clinical syndromes and treatment. **QJM**, 2014.

MCKEOWN, M. R. et al. Biased multicomponent reactions to develop novel bromodomain inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2014.

MISHRA, G.; SACHAN, N.; CHAWLA, P. Synthesis and Evaluation of Thiazolidinedione-Coumarin Adducts as Antidiabetic, Anti-Inflammatory and Antioxidant Agents. **Letters in Organic Chemistry**, 2015.

MOHAMMED IQBAL, A. K. et al. Synthesis, hypoglycemic and hypolipidemic activities of novel thiazolidinedione derivatives containing thiazole/triazole/oxadiazole ring. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2012.

MONDAL, P. et al. Synthesis of Some New Isoxazoline Derivatives of Chalconised Indoline 2-one as a Potential Analgesic, Antibacterial and Anthelmintic Agents. **Journal of Young Pharmacists**, 2012.

MOREIRA, D. R. M. et al. Structural design, synthesis and structure-activity relationships of thiazolidinones with enhanced anti-Trypanosoma cruzi activity. **ChemMedChem**, v. 9, n. 1, p. 177–188, 2014.

MORENO-RODRÍGUEZ, A. et al. In vitro antiparasitic activity of new thiosemicarbazones in strains of Trypanosoma cruzi. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 87, p. 23–29, 2014.

NASTASĂ, C. et al. Synthesis of new N-substituted 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones as anti-inflammatory and antimicrobial agents. **Archiv der Pharmazie**, 2013.

NIKAM, M. D. et al. Synthesis, molecular docking and biological evaluation of some novel tetrazolo[1,5-a]quinoline incorporated pyrazoline and isoxazoline derivatives. **Medicinal Chemistry Research**, 2015.

NO, J. H. **Visceral leishmaniasis: Revisiting current treatments and approaches for future discoveries** *Acta Tropica*, 2016.

PACE, D. Leishmaniasis. **Journal of Infection**, v. 69, p. S10–S18, 2014.

PAGNIEZ, F. et al. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry Antileishmanial activities and mechanisms of action of indole-based azoles. 2006.

PALUMBO PICCIONELLO, A. et al. Synthesis of isoxazoline derivatives through boulton-katritzky rearrangement of 1,2,4-oxadiazoles. **European Journal of Organic Chemistry**, 2013.

PAN, P. et al. Cloning, characterization, and sulfonamide and thiol inhibition studies of an α -carbonic anhydrase from Trypanosoma cruzi, the causative agent of Chagas disease. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2013.

PAPE, P. LE; PAGNIEZ, F.; ABDALA, H. A new automatized fluorometric assay for anti-Leishmania drug screening. **Acta Parasitologica**, 2002.

PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. **Chagas disease** *The Lancet*, 2018.

PINTO, A. et al. Synthesis of new isoxazoline-based acidic amino acids and investigation of their affinity and selectivity profile at ionotropic glutamate receptors. **European journal of medicinal chemistry**, v. 46, n. 2, p. 787–93, fev. 2011.

PRAJAPTI, S. K. et al. Synthesis and biological evaluation of novel Δ^2 -isoxazoline fused cyclopentane derivatives as potential antimicrobial and anticancer agents. **MedChemComm**, 2015.

PREVENTION, C.-C. FOR D. C. AND. CDC - Leishmaniasis - Disease. 2018.
 RAM, S.; EHRENKAUFER, R. E. A general procedure for mild and rapid reduction of aliphatic and aromatic nitro compounds using ammonium formate as a catalytic hydrogen transfer agent. **Tetrahedron Letters**, 1984.

RAO, R. N. et al. Efficient Access to Imidazo[1,2- a] pyridines/pyrazines/pyrimidines via Catalyst-Free Annulation Reaction under Microwave Irradiation in Green Solvent. **ACS Combinatorial Science**, 2018.

RASSI, A.; RASSI, A.; MARCONDES DE REZENDE, J. **American Trypanosomiasis (Chagas Disease) Infectious Disease Clinics of North America**, 2012.

RÊGO, M. J. B. D. M. et al. Synthesis, in vitro anticancer activity and in silico study of new disubstituted thiazolidinedione derivatives. **Medicinal Chemistry Research**, 2014.

REIS, S. L. G. B. et al. Síntese e avaliação preliminar da atividade antinociceptiva de novas isoxazolil-aril-hidrazonas. **Química Nova**, 2011.

ROMANHA, A. J. et al. In vitro and in vivo experimental models for drug screening and development for Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 2010.

SANTOS, R. J. DOS. **Reações de cicloadição 1,3-dipolar de enecarbamatos e enamidas endocíclicas de 5 membros com N-óxido de nitrila. Síntese e avaliação da atividade antiinflamatória de derivados isoxazolínicos bicíclicos pirrolidínicos e antimicrobiana de enamidas endocíclic.** [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2003.

SAXTY, G. [HR]; et al. **Imidazo-condensed bicycles as inhibitors of discoidin domain receptors (DDRS)**, 2015. Disponível em:
 <https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?CC=WO&NR=2015004481A1&KC=A1&FT=D&ND=3&date=20150115&DB=EPODOC&locale=en_EP>. Acesso em: 26 mar. 2019

SAYER, J. R. et al. 2- and 3-substituted imidazo[1,2-a]pyrazines as inhibitors of bacterial type IV secretion. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, 2014.

SCARIM, C. B. et al. **Current advances in drug discovery for Chagas disease** **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2018.

SCHMUNIS, G. A. **Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: The role of international migration.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. **Anais...** 2007

SHI, L. et al. Anthranilic acid-based diamides derivatives incorporating aryl-isoxazoline pharmacophore as potential anticancer agents: Design, synthesis and biological evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2012.

TEMPERINI, M. L. A.; DOS SANTOS, M. R.; PAOLI MONTEIRO, V. R.

Spectroscopic study of the isomerization of Z- to E-pyridine-2-formyl thiosemicarbazone. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 1995.

TESTON, A. P. M. et al. In vivo susceptibility to benznidazole of Trypanosoma cruzi strains from the western Brazilian Amazon. **Tropical Medicine and International Health**, 2013.

VAN GRIENSVEN, J.; DIRO, E. Visceral Leishmaniasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 309–322, 1 jun. 2012.

VENKATESAN, A. M. et al. Structure-activity relationship of 6-methylidene penems bearing 6,5 bicyclic heterocycles as broad-spectrum β -lactamase inhibitors: Evidence for 1,4-thiazepine intermediates with C7 R stereochemistry by computational methods. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2006.

VIEGAS-JUNIOR, C. et al. Molecular hybridization: a useful tool in the design of new drug prototypes. **Current medicinal chemistry**, v. 14, n. 17, p. 1829–52, jan. 2007.

VIOTTI, R. et al. **Towards a paradigm shift in the treatment of chronic chagas disease** **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 2014.

WANG, Y. et al. Synthesis and quantitative structure-activity relationship (QSAR) study of novel isoxazoline and oxime derivatives of podophyllotoxin as insecticidal agents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **What is Chagas disease?** Disponível em: <<https://www.who.int/chagas/disease/en/>>. Acesso em: 6 dez. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Neglected tropical diseases**. Disponível em: <http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/>. Acesso em: 5 dez. 2018a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Epidemiological situation**. Disponível em: <<https://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>>. Acesso em: 6 dez. 2018b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Chagas disease - Epidemiology**. Disponível em: <<https://www.who.int/chagas/epidemiology/en/>>. Acesso em: 18 dez. 2018c.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. Disponível em: <[http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))>. Acesso em: 28 ago. 2018d.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. Disponível em: <[https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))>. Acesso em: 14 dez. 2018e.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Leishmaniasis**. Disponível em: <<http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>>. Acesso em: 28 ago. 2018f.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Leishmaniasis**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>>. Acesso em: 16 jan. 2019a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Leishmaniasis**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>>. Acesso em: 18 jan. 2019b.

YANG, X. L. et al. Synthesis of isoxazoline-functionalized phenanthridines via iminoxyl radical-participated cascade sequence. **Organic Letters**, 2014.

YUJIRO, N. et al. One-Step Synthesis and Structural Confirmation of 1-Pyrroline Trimer. **Chemistry Letters**, 1977.

ZHANG, P. et al. Synthesis and biological activities of novel isoxazoline-linked pseudodisaccharide derivatives. **Carbohydrate research**, v. 351, p. 7–16, 1 abr. 2012.

ZHAO, H. et al. Theoretical study of reaction mechanism and regioselectivity of spiro-isoxazoline derivatives synthesized by intermolecular 1,3-dipolar cycloaddition. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, 2004.